

**VCO (*Virgin Coconut Oil*) HASIL PENGASAMAN
JERUK NIPIS SEBAGAI TERAPI LUKA INSISI
HEWAN MODEL INFEKSI NOSOKOMIAL
BERDASARKAN KADAR TGF β DAN
KETEBALAN EPIDERMIS**

SKRIPSI

Oleh:

SITI MARIA KHIFTIYAH

145130100111002



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**VCO (*Virgin Coconut Oil*) HASIL PENGASAMAN JERUK NIPIS SEBAGAI TERAPI
LUKA INSISI HEWAN MODEL INFEKSI NOSOKOMIAL BERDASARKAN
KADAR TGF β DAN
KETEBALAN EPIDERMIS**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:

SITI MARIA KHIFTIYAH

145130100111002



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

VCO (*Virgin Coconut Oil*) Hasil Pengasaman Jeruk Nipis sebagai Terapi Luka Insisi Hewan Model Infeksi Nosokomial Berdasarkan Kadar TGF β dan Ketebalan Epidermis

Oleh :

SITI MARIA KHIFTIYAH

145130100111002

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Mengetahui,

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Sri Murwani, drh., MP.
NIP. 196301011989032 001

drh. Dian Vidiastuti, M.Si
NIP. 19820207200912 2 003

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Siti Maria Khiftiyah

NIM : 145130100111002

Program Studi : Kedokteran Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

VCO (*Virgin Coconut Oil*) Hasil Pengasaman Jeruk Nipis Sebagai Terapi Luka Insisi Hewan Model Infeksi Nosokomial Berdasarkan Kadar TGF β dan Ketebalan Epidermis

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 6 Agustus 2018
Yang Menyatakan,

SITI MARIA KHIFTIYAH
NIM. 145130100111002

repository.ub.ac.id

**VCO (*Virgin Coconut Oil*) Hasil Pengasaman Jeruk Nipis sebagai Terapi Luka
Insisi Hewan Model Infeksi Nosokomial
Berdasarkan Kadar TGF β dan
Ketebalan Epidermis**

ABSTRAK

Luka pasca operasi dapat mengalami infeksi nosokomial yang memperlama kesembuhan luka. Infeksi nosokomial paling tinggi disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini memiliki sifat *multidrug resistant* sehingga pemberian antibiotik dinilai kurang efisien. VCO (*Virgin Coconut Oil*) memiliki potensi untuk terapi luka insisi karena mengandung *Medium Chain Triglycerida* (MCT) terutama asam laurat yang bersifat antibakteri, mempercepat proliferasi fibroblast dan antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek terapi VCO pada luka insisi hewan model nosokomial terhadap kadar TGF β dan ketebalan epidermis. Penelitian ini bersifat eksperimental dengan hewan coba mencit (*Mus musculus*) BALB/c jantan dengan berat 30 gram berumur 8 minggu yang dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kontrol negatif (K-) adalah mencit yang dijahit lukanya dengan benang *silk* secara aseptis dan terapi antibiotik topikal, kontrol positif (K+) adalah mencit yang dijahit lukanya dengan benang yang dikontaminasi *S.aureus* tanpa pemberian terapi. Kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 merupakan kelompok yang dijahit lukanya dengan benang yang dikontaminasi *S.aureus* dan diterapi VCO yaitu P1 (1x sehari), P2 (2x sehari), P3 (3x sehari). Volume pemberian VCO sebanyak 50 μ l diberikan selama 7 hari secara topikal. Perhitungan ketebalan epidermis diamati secara kuantitatif dengan pewarnaan HE. Kadar TGF β diukur secara kuantitatif menggunakan *flowcytometry* dan software BD *cellquest Pro*TM. Semua data dianalisis menggunakan uji *one way ANOVA* dan uji lanjutan BNJ (Beda Nyata Jujur) dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan terapi VCO 1x sehari menunjukkan peningkatan signifikan ($p < 0,05$) terhadap kadar TGF β yaitu sebesar $3,76 \pm 2,18$ (% sel) jaringan kulit mencit model nosokomial. Pemberian terapi VCO frekuensi 1x sehari, 2x sehari, 3x sehari mampu meningkatkan ketebalan epidermis kulit mencit model nosokomial yaitu sebesar 5,64 μ m; 5,32 μ m; dan 5,00 μ m. Kesimpulan dari penelitian ini bahwa pemberian VCO memiliki potensi sebagai terapi alternatif luka infeksi nosokomial.

Kata kunci: Infeksi Nosokomial, Luka insisi, *Virgin Coconut Oil*, TGF β , Epidermis

VCO (*Virgin Coconut Oil*) Therapy with Acid Squeeze to Nosocomial Infection Model seen from TGF β Levels and Epidermal Thickness

ABSTRACT

Nosocomial infection can prolong post-surgery wound healing. The highest nosocomial infection is caused by *Staphylococcus aureus*. These bacteria have multidrug resistant properties so that antibiotics are considered less efficient. VCO (*Virgin Coconut Oil*) has the potential to treat incision wounds because it contains lauric acid which can be antibacterial, accelerate proliferation of fibroblasts and anti-inflammatory. This study aimed to determine the effect of VCO therapy on nosocomial model animals based on the levels of TGF β and epidermal thickness. The experimental animals used male (*Mus musculus*) BALB / c mice weight of 30 grams, 8 weeks old which was divided into 5 groups, namely negative control (K-) was sutured with silk thread aseptically and given topical antibiotic therapy, positive control (K+) was sutured with a thread contaminated *S.aureus* without therapy. Treatment groups 1, 2 and 3 were groups that sutured with threads contaminated *S.aureus* and treated with VCO namely P1 (1x daily), P2 (2x daily), P3 (3x daily). 50 μ l of VCO was performed over 7 days topically. Calculation of epidermal thickness was observed quantitatively with HE staining. Levels of TGF β used flowcytometry and BD cellquest ProTM software. All data were analyzed by using one-way ANOVA test and BNJ with 95% confidence level ($\alpha = 0,05$). The results showed VCO therapy 1x daily showed a significant increase ($p < 0.05$) of TGF β levels in the amount of $3.76 \pm 2,18$ (% cells) of skin tissue nosocomial mice models. The frequency of VCO therapy 1x daily, 2x daily, 3x daily was able to increase the epidermal thickness of the skin tissue of nosocomial mice models which was 5.64 μ m; 5,32 μ m; and 5,00 μ m. The conclusion of this study that VCO administration has the potential as an alternative therapeutic wound for nosocomial infections.

Keywords *Nosocomial Infection, wound, Virgin Coconut Oil, TGF β , Epidermal.*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga proposal SKRIPSI yang berjudul **“VCO (*Virgin Coconut Oil*) Hasil Pengasaman Jeruk Nipis sebagai Terapi Luka Insisi Hewan Model Infeksi Nosokomial Berdasarkan Kadar TGF β dan Ketebalan Epidermis”** ini dapat terselesaikan.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada segenap pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah membantu dalam penyusunan Proposal SKRIPSI ini. Ucapan terima kasih terutama kepada:

1. Dr. Sri Murwani, drh.,MP. selaku dosen pembimbing 1 atas segala bantuan, kesempatan, nasihat, bimbingan, arahan serta dukungan yang diberikan kepada penulis.
2. Drh. Dian Vidiastuti, M.Si., selaku dosen pembimbing 2 atas segala bantuan, kesempatan, nasihat, bimbingan, arahan serta dukungan yang diberikan kepada penulis.
3. Drh. Ajeng Aeka M.Sc., dan Dhita Evi Aryani S.Farm, Apt., M.Farm. Klin. selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik, saran, dan masukan yang sangat membangun.
4. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya
5. Secara khusus penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada Almarhum Bapak dan Almarhumah Ibu, serta keluarga besar yang telah memberikan doa, kasih sayang, dukungan, pengorbanan baik secara moril maupun materil kepada penulis selama belajar di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang.
6. Teman-teman tim SKRIPSWEET yaitu Fitri, Annisa, dan Galuh yang telah memberikan dukungan dan *support* terbaiknya.
7. Sahabat angkatan 2014 terutama kelas B atas segala perhatian, semangat, penghargaan, ajaran, motivasi, dukungan, kebersamaan, dan doa yang telah diberikan dalam meraih mimpi.
8. Teman-teman kost SQUAD 56 yang juga ikut membantu proses pembuatan skripsi dengan memberikan doa dan ikut membantu memberikan semangatnya.
9. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan SKRIPSI ini yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan proposal SKRIPSI ini masih jauh dari kesempurnaan, maka saran dan kritik yang konstruktif dari semua pihak sangat diharapkan demi penyempurnaan selanjutnya.

repository.ub.ac.id

Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan skripsi ini dapat memberikan manfaat dan menambah pengetahuan tidak hanya bagi penulis tetapi juga bagi pembaca.

Malang, 6 Agustus 2018

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
COVER	
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Batasan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Kulit	6
2.2 Luka dan Proses Penyembuhan Luka	10
2.3 Infeksi Nosokomial	14
2.4 <i>Stapylococcus aureus</i>	15
2.5 TGF β	16
2.6 <i>Virgin Coconut Oil</i> (VCO).....	17
2.7 Mencit (<i>Mus musculus</i>)	19
BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	21
3.1 Kerangka Konseptual	21
3.2 Hipotesis Penelitian	24
BAB 4. METODE PENELITIAN.....	25
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	25
4.2 Alat dan Bahan.....	25
4.3 Sampel Penelitian.....	26
4.4 Rancangan Penelitian.....	27
4.5 Variabel Penelitian.....	27
4.6 Prosedur Kerja	28
4.6.1 Persiapan Hewan Coba	28
4.6.2 Pembuatan VCO Pengasaman Perasan Jeruk Nipis	28
4.6.3 Pembuatan Suspensi Bakteri	29
4.6.4 Identifikasi dan Uji Sensitifitas Terhadap MRSA	30
4.6.5 Pembuatan Benang Terkontaminasi Bakteri <i>S.aureus</i>	31
4.6.6.Pembuatan Luka Infeksi Nosokomial pada Mencit	32
4.6.7 Terapi VCO.....	33
4.6.8 Pengambilan Jaringan Kulit	33
4.6.9 Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit	33
4.6.10 Pengukuran Kadar TGF- β menggunakan	



<i>flowcytometry</i>	34
4.7 Analisis Data	35
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN	36
5.1 Pengamatan Makroskopis Efek Terapi VCO Pada Luka Insisi Hewan Model Infeksi Nosokomial	36
5.2 Efek Terapi VCO Pada Luka Insisi Hewan model Nosokomial Pasca Operasi terhadap Kadar TGF β	41
5.3 Efek Terapi VCO Pada Luka Insisi Hewan model Nosokomial Pasca Operasi terhadap Ketebalan Epidermis.....	48
BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN	59
DAFTAR PUSTAKA	60
LAMPIRAN	66



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
5.1 Rata-Rata Kadar TGF β	43
5.2 Rata-Rata Ketebalan Epidermis	54



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Lapisan Penyusun Kulit	6
2.2 Gambaran Histogis Kulit	10
2.3 Fase Penyembuhan Luka	11
2.4 Fase Remodeling Penyembuhan Luka	13
5.1 Gambaran Makroskopis Kesembuhan Luka Kontrol Negatif	38
5.2 Gambaran Makroskopis Kesembuhan Luka Kontrol Positif	39
5.3 Gambaran Makroskopis Kesembuhan Luka Perlakuan 1	39
5.4 Gambaran Makroskopis Kesembuhan Luka Perlakuan 2	40
5.5 Gambaran Makroskopis Kesembuhan Luka Perlakuan 3	40
5.6 Diagram Rata-rata Kadar TGF β	42
5.7 Gambaran Histopatologi Luka Kontrol Negatif	50
5.8 Gambaran Histopatologi Luka Kontrol Positif	50
5.9 Gambaran Histopatologi Luka Perlakuan 1	51
5.10 Gambaran Histopatologi Luka Perlakuan 2	51
5.11 Gambaran Histopatologi Luka Perlakuan 3	52
5.12 Diagram Rata-Rata Ketebalan Epidermis	53

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Surat Laik Etik	67
2. Hasil Analisa VCO	68
3. Perhitungan Pengenceran Mc. Farland	69
4. Kerangka Operasional Penelitian	70
5. Pembuatan Preparat Histopatologi	71
6. Prosedure Pewarnaan <i>Hematoxylin-Eosin</i>	72
7. Prosedur <i>Flowcytometry</i> untuk TGF β	73
8. Identifikasi Bakteri <i>S.aureus</i> pada Media MSA	74
9. Uji Sensitifitas Antibiotik Terhadap <i>S.aureus</i>	75
10. Kadar Relatif TGF β Hasil Uji <i>Flowcytometry</i>	76
11. Rata-rata Kadar Relatif TGF β	79
12. Hasil Statistika Kadar Relatif TGF β	80
13. Hasil Statistika Ketebalan Epidermis	83
14. Data Ketebalan Epidermis	87

DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
VCO	: <i>Virgin Coconut Oil</i>
MRSA	: <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i>
MCFA	: <i>Medium Chain Fatty Acid</i>
HE	: <i>Hematoksilin-Eosin</i>
PDGF	: <i>Platelet-Derived Growth Factor</i>
PAMP	: <i>Pathogen Associated Molecular Patterns</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor-B</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
LPS	: <i>Lipopolisakarida</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RAL	: <i>Rancangan Acak Lengkap</i>
BNF	: <i>Buffer Neutral Formalin</i>
BNJ	: <i>Beda Nyata Jujur</i>
MSA	: <i>Manitol Salt Agar</i>
NA	: <i>Nutrient Agar</i>
NB	: <i>Nutrient Broth</i>
MHA	: <i>Mueller Hinton Agar</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyembuhan luka pasca operasi yang baik sangat penting untuk restorasi jaringan dalam hal ini kulit, baik secara anatomi maupun secara fungsional (Begum, 2000). Luka operasi dapat mengalami infeksi nosokomial yang memperlama kesembuhan luka. Infeksi nosokomial adalah infeksi lokal maupun sistemik akibat agen infeksi atau toksin yang didapat di rumah sakit, termasuk rumah sakit hewan (Milton, *et al.*, 2015). Infeksi nosokomial pada luka operasi ditandai dengan adanya *discharge purulen* di sekitar luka, abses atau selulitis yang meluas dari luka (WHO, 2002). Infeksi nosokomial pada luka operasi terjadi ketika mikroorganisme patogen dari sumber masuk ke dalam luka insisi yaitu melalui tenaga kesehatan, alat kesehatan, lingkungan dan vektor (Suharto dan Robert, 1994).

Mikroorganisme penyebab infeksi nosokomial pada luka pasca operasi antara lain *Staphylococcus aureus* 20%, *Pseudomonas aeruginosa* 16%, *Coagulase-negative Staphylococci* 15%, *Enterococci*, jamur, *Enterobacter*, dan *Escherichia coli* <10% (Nasution, 2012). Penyebab infeksi nosokomial yang paling sering adalah bakteri sehingga antibiotik masih merupakan pilihan utama untuk mengatasi infeksi. Beberapa bakteri memiliki sifat *multidrug resistant* termasuk *Staphylococcus aureus*, sehingga pemberian antibiotik dinilai kurang efisien dan memperlambat kesembuhan luka (Kurniawati, 2015).

Proses penyembuhan luka secara umum ada empat fase utama yaitu fase hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase maturasi atau *remodelling*. Keempat fase tersebut diinisiasi, dimediasi, dan diteruskan oleh mediator biokimia berupa sitokin dan *growth factor* (Williams, 2009). Salah satu sitokin yang berperan

dalam proses penyembuhan luka adalah *Transforming Growth Factor* β (TGF- β) (Prabakti, 2005).

Transforming Growth Factor β (TGF- β) merupakan suatu sitokin polipeptida multifungsi yang disekresikan oleh berbagai macam sel dalam tubuh termasuk makrofag, monosit, limfosit dan lain-lain. Sitokin ini memiliki fungsi penting dalam proliferasi dan migrasi fibroblast, meningkatkan sintesis kolagen dan fibronectin serta mengurangi degradasi atau pemecahan *matrik ekstraseluler metalloproteinase*. TGF- β sangat penting dalam proses penyembuhan luka (Ester dan Troef, 2012). Penyembuhan luka berjalan lebih singkat dengan pemberian pengobatan yang efektif. Salah satunya yaitu dengan pengobatan herbal berupa VCO (*Virgin Coconut Oil*). *Virgin coconut oil* terbukti mempercepat waktu penyembuhan luka dan memiliki presentase kesembuhan paling tinggi terhadap luka bakar kimiawi pada *Rattus novergicus*. Penelitian yang dilakukan pada 18 *Sprague-Dawley* dengan luka eksisi, membuktikan bahwa VCO mampu meningkatkan proliferasi sel fibroblast sehingga kepadatan serat kolagen meningkat (Nevin and Rajamohan, 2010). Penelitian lain yang dilakukan oleh Cahyati, dkk (2015) menyatakan bahwa VCO yang diberikan dua kali sehari secara topikal mampu menurunkan skor ruam pada kulit dibanding ruam kulit yang tidak diberikan VCO.

VCO (*Virgin Coconut Oil*) adalah minyak yang dihasilkan dari buah kelapa segar mengandung *Medium Chain Triglycerida* (MCT) berupa *asam laurat*, *flavonoid*, dan *tocophenol* bersifat anti-inflamasi, anti-bakteri, dan anti-oksidan. Kandungan asam laurat dalam VCO akan dirubah menjadi monolaurin, sebuah senyawa monogliserida yang bersifat antivirus, antibakteri, dan antiprotozoa (Fife,

2004). Asam lemak dalam VCO yang paling aktif sebagai antibakteri adalah asam laurat dan asam kaprat beserta monogliseridanya yakni monolaurin dan monokaprin. VCO (*Virgin Coconut Oil*) yang diaplikasikan langsung pada kulit dapat mempercepat penyembuhan luka dan mencegah terjadinya infeksi nosokomial pada luka pasca operasi (Tamara, 2014).

Metode pembuatan VCO umumnya dilakukan menggunakan dua cara yaitu cara kering dan cara basah. Ekstraksi minyak secara kering dilakukan dengan cara pengepresan kopra (kelapa kering), kemudian dilakukan pemurnian pada minyak yang dihasilkan. Ekstraksi minyak secara basah dapat dilakukan dengan proses pemanasan, fermentasi, pengasaman dan penambahan enzim (Arsa dkk., 2004). Minyak kelapa yang dihasilkan dengan cara basah memerlukan pemanasan yang cukup lama sehingga membutuhkan bahan bakar yang cukup banyak pula. Salah satu metode yang dapat meningkatkan rendemen maupun kualitas minyak adalah dengan menghidrolisis proteinnya sehingga minyak dapat lepas dari ikatan lipoprotein. Sudarmadji dkk, (1989) bahwa hidrolisis protein dapat dilakukan dengan menambahkan larutan asam, basa, dan enzim. Senyawa asam yang terdapat pada buah jeruk nipis dapat menurunkan pH krim santan. Jeruk nipis mengandung asam sitrat ($C_6H_8O_7$) 7-7,6% dalam 100 gram. Asam sitrat dapat membantu pada proses pembuatan minyak kelapa, karena ketika air jeruk nipis bereaksi dengan krim santan maka akan lebih mempercepat proses pemisahan antara fase minyak dan airnya.

Berdasarkan tinjauan yang telah disebutkan, maka dalam penelitian ini dilakukan studi terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) terhadap luka hewan model nosokomial. Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekspresi sitokin

Transforming Growth Factor β (TGF- β) dan ketebalan epidermis kulit. Penelitian ini diharapkan dapat membuat inovasi pengobatan kesembuhan luka infeksi nosokomial pasca operasi yang efektif.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) dapat meningkatkan kadar TGF- β pada luka insisi hewan model nosokomial ?
2. Apakah terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) dapat meningkatkan ketebalan epidermis pada luka insisi hewan model nosokomial ?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan rumusan masalah yang sudah disebutkan di atas, maka penelitian ini dibatasi pada :

1. Hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) BALB/c jantan dengan berat 30 g berumur 8 minggu (Dai, 2011). Perlakuan terhadap hewan coba telah memperoleh persetujuan laik etik dari Komisi Etik Penelitian No. 907-KEP Universitas Brawijaya.
2. Anestesi untuk pembuatan model luka menggunakan kombinasi Ketamine HCl (dosis 100 mg/kgBB) dan Xylazine (dosis 5 mg/kg BB) (Clouthier dan Luther, 2015; Plumb, 2008).
3. Antibiotik yang digunakan untuk terapi kontrol negatif adalah *bacitracin* dan *neomycin sulfate* salep secara topikal dengan frekuensi pemberian sebanyak 3 kali sehari.
4. Pembuatan model luka nosokomial dibuat berdasarkan Dai (2011) yang dimodifikasi, yakni dengan insisi *longitudinal midline* sepanjang 2,5 cm kedalaman *panniculus carnosus*. Luka dijahit dengan benang *silk* 4/0

dengan panjang 5 cm yang dikontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* (10^5 CFU/ml). Penjahitan dilakukan dengan jarum *tapper* 1/2 GT 35 mm pola *simple continuous suture* secara diagonal pada *panniculus carnosus* punggung.

5. VCO diperoleh dari hasil perasan kelapa tua segar dengan metode pengasaman melalui penambahan perasan jeruk nipis 1 %. Frekuensi pemberian VCO satu kali sehari, dua kali sehari, dan 3 kali sehari dengan konsentrasi 100% VCO murni (Salsabila, 2016).
6. Pengamatan ketebalan epidermis dengan mengamati histopatologi kulit pewarnaan HE (Febram, dkk, 2010).
7. Pengukuran kadar TGF- β dilakukan dengan metode *flowcytometry* (Hefni, dkk. 2013).

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah diuraikan, terdapat beberapa tujuan dari penelitian ini yakni :

1. Mengetahui efek terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) terhadap peningkatan kadar TGF- β pada hewan model nosokomial
2. Mengetahui efek terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) terhadap ketebalan epidermis pada hewan model nosokomial

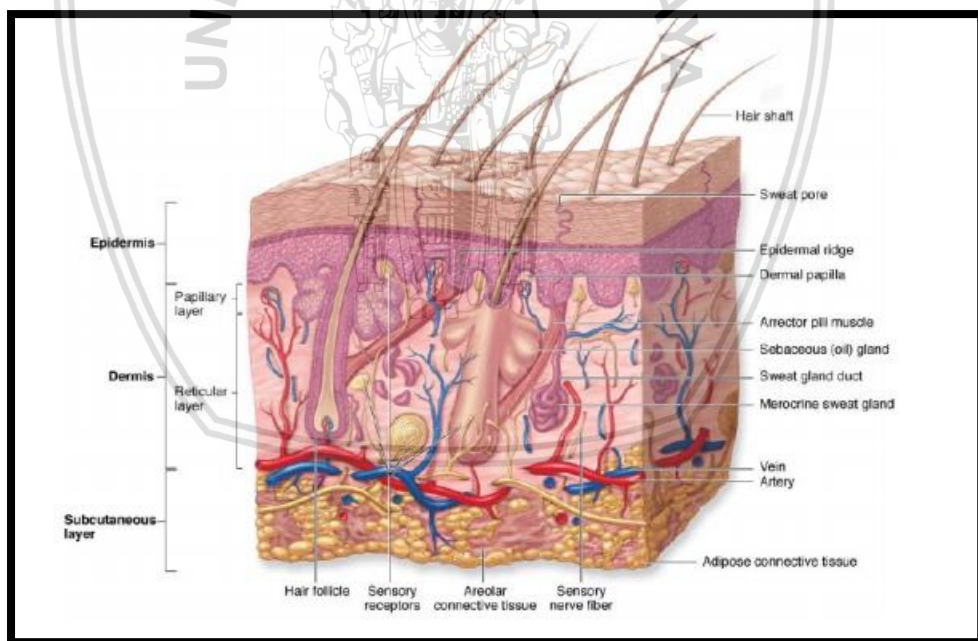
1.5 Manfaat Penelitian

1. Sebagai dasar penelitian lanjutan mengenai pemanfaatan VCO (*Virgin Coconut Oil*) sebagai terapi terhadap luka infeksi nosokomial.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit

Kulit merupakan organ terbesar yang menyusun tubuh manusia dan hewan yang berfungsi sebagai proteksi terhadap lingkungan, mikroorganisme dan sebagai termoregulasi serta respon sensorik terhadap sentuhan, tekanan, dan nyeri. Kulit juga sangat penting sebagai pendukung metabolisme tubuh yaitu untuk memproduksi vitamin D, penyimpanan air, lemak, elektrolit, karbohidrat, dan protein. Kulit merupakan organ yang vital dan esensial serta merupakan cermin kesehatan dan kehidupan (Djuanda, 2003). Kulit secara umum memiliki ketebalan dari 0,5 mm hingga 4 mm. Susunan kulit terdiri dari tiga lapisan utama yaitu epidermis, dermis, dan hypodermis atau subkutan (Pavletic, 2010).



Gambar 2.1 Lapisan Penyusun Kulit (Mescher, 2010)

1. Epidermis

Epidermis merupakan lapisan penyusun kulit yang paling luar dan terdiri atas epitel berlapis gepeng dengan lapisan tanduk. Lapisan epidermis hanya disusun

oleh jaringan epitel, tidak memiliki pembuluh darah maupun limfa oleh karena itu semua nutrien dan oksigen diperoleh dari kapiler pada lapisan dermis. Lapisan epitel berlapis gepeng pada epidermis ini tersusun oleh banyak lapis sel yang disebut keratinosit. Sel-sel ini secara tetap diperbarui melalui mitosis sel-sel dalam lapis basal yang secara berangsur digeser ke permukaan epitel. Epidermis terdiri atas 5 lapisan penyusun dari dalam ke luar, yaitu stratum basal, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lusidum, dan stratum korneum (Kalangi, 2013).

- a. Stratum Basal atau germinativum merupakan lapisan yang terdiri atas sel-sel berbentuk kubus yang tersusun vertikal pada perbatasan dermo-epidermal berbasis seperti pagar (palisade). Lapisan ini merupakan lapisan epidermis yang paling bawah. Sel-sel basal ini mengalami mitosis dan berfungsi reproduktif. Pada lapisan ini biasanya terlihat gambaran mitotik sel, proliferasi selnya berfungsi untuk regenerasi epitel. Sel-sel pada lapisan ini bermigrasi ke arah permukaan untuk memasok sel-sel pada lapisan yang lebih superficial (Kalangi, 2013).
- b. Stratum Spinosum merupakan lapisan yang paling tebal dan dapat mencapai 0,2 mm terdiri dari 5-8 lapisan. Lapisan ini terdiri atas beberapa lapis sel yang besar-besar berbentuk poligonal dengan inti lonjong serta sitoplasmanya berwarna kebiruan. Bila dilakukan pengamatan dengan pembesaran obyektif 45x, maka pada dinding sel yang berbatasan dengan sel di sebelahnya akan terlihat taju-taju yang seolah-olah menghubungkan sel yang satu dengan yang lainnya. Pada taju inilah terletak desmosom yang melekatkan sel-sel satu sama lain pada lapisan ini. Semakin ke atas bentuk sel semakin gepeng (Kalangi, 2013).

- c. Stratum Granulosum merupakan lapisan yang terdiri dari sel-sel pipih seperti kumparan. Lapisan ini terdiri atas 2-4 lapis sel gepeng yang mengandung banyak granula basofilik yang disebut granula keratohialin, yang dengan mikroskop elektron merupakan partikel amorf tanpa membran tetapi dikelilingi ribosom. Mikrofilamen melekat pada permukaan granula (Kalangi, 2013).
- d. Stratum Lusidum merupakan lapisan sel-sel gepeng tanpa inti dengan protoplasma yang berubah menjadi protein yang disebut eleidin. Lapisan tersebut tampak lebih jelas di telapak tangan dan kaki (Djuanda, 2003). Lapisan ini dibentuk oleh 2-3 lapisan sel gepeng yang tembus cahaya, dan agak eosinofilik, tak ada inti maupun organel pada sel-sel lapisan ini.
- e. Stratum Korneum merupakan lapisan kulit yang paling luar dan lapisan ini terdiri atas banyak lapisan sel-sel gepeng yang mati, pipih dan tidak berinti serta memiliki sitoplasma yang digantikan oleh keratin (Kalangi, 2013). Sel-sel yang paling permukaan merupakan sisik zat tanduk yang terdehidrasi dan selalu terkelupas.

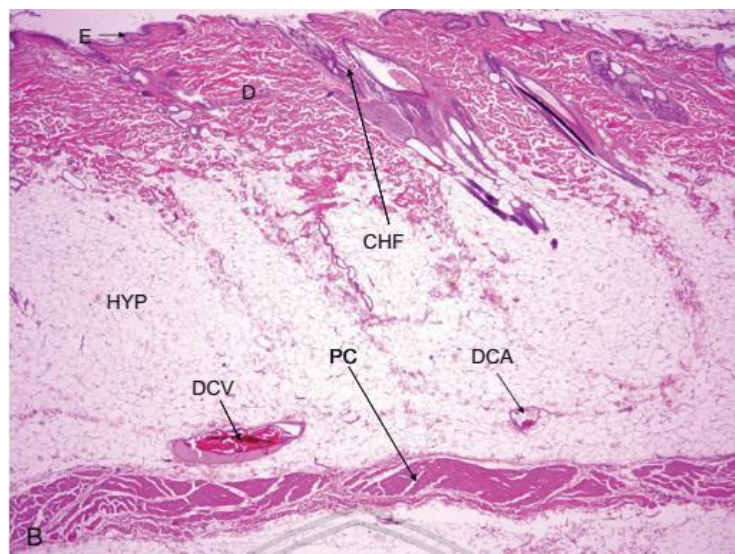
2. Dermis

Dermis merupakan lapisan kedua penyusun kulit. Batas dengan epidermis dilapisi oleh membran basalis dan di sebelah bawah berbatasan dengan subkutis tetapi batas ini tidak jelas hanya bisa dilihat sebagai tanda yaitu mulai terdapat sel lemak pada bagian tersebut. Dermis terdiri dari dua lapisan yaitu bagian atas, pars papilaris (stratum papilar) dan bagian bawah pars retikularis (stratum retikularis). Pada bagian dermis, baik pars papilaris maupun pars retikularis terdiri dari jaringan ikat longgar yang tersusun dari serabut-serabut yaitu serabut kolagen, retikuler

(prekolagen), dan serat elastis dalam substansi dasar mukopolisakarida. Substansi dasar ini terdiri dari asam hyaluronic dan asam sulfat chondroitin yang merupakan komponen utama dari dermis. Sembilan puluh persen dari serabut dermal terdiri dari kolagen, fibroblas, makrofag, sel plasma, dan sel mast pada dermis terdapat lebih banyak di bagian superfisial. Dermis mengandung jaringan kulit kapiler, limfatik, komponen saraf, otot arrector pili, folikel rambut, dan kelenjar keringat (Pavletic, 2010).

3. Hipodermis atau subkutis

Lapisan subkutis merupakan lapisan kelanjutan dari lapisan dermis yang terdiri atas jaringan ikat longgar berisi sel-sel lemak didalamnya. Sel-sel ini membentuk kelompok yang dipisahkan satu dengan yang lain oleh trabekula yang fibrosa. Lapisan Subkutis ditandai dengan adanya jaringan ikat longgar dan adanya sel dan jaringan lemak (Tortora *et al.*, 2009). Lapisan jaringan lemak tersebut disebut *panikulus adiposus*, berfungsi sebagai cadangan makanan dan di lapisan ini terdapat ujung-ujung saraf tepi, pembuluh darah, dan kelenjar getah bening. Fungsi lain dari penikulus adiposus adalah sebagai shock braker atau pegas bila terdapat tekanan trauma mekanis pada kulit, isolator panas atau untuk mempertahankan suhu, penimbunan kalori, dan tambahan untuk kecantikan tubuh. Lapisan *panikulus adiposus* memiliki ketebalan yang tidak sama pada setiap tempat (Kalangi, 2013). Lapisan *panikulus adiposus* dapat diamati pada gambar 2.2 berikut.



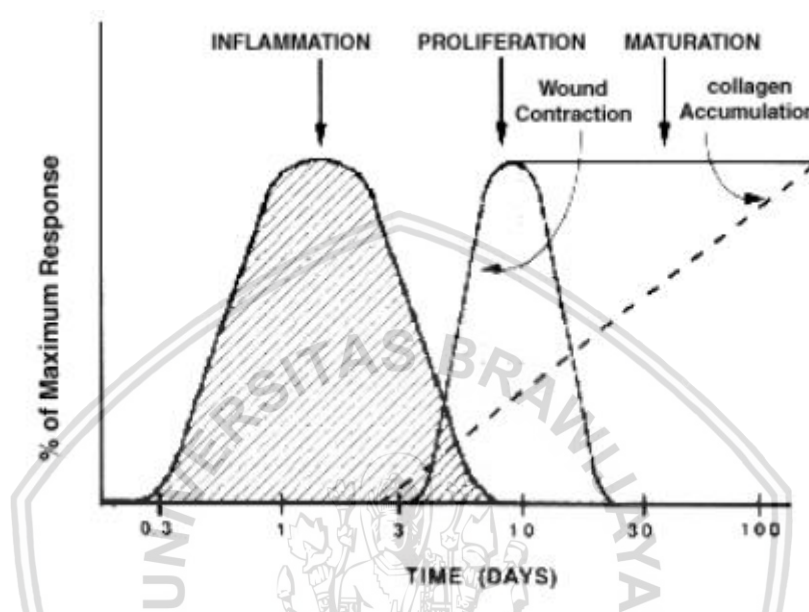
Gambar 2.2 Gambaran histologis kulit; E, epidermis; D, dermis; HYP, hipodermis; CHF, *compound hair follicle*; DCA, *direct cutaneous artery*; DCV, *direct cutaneous vein*; PC, *panniculus carnosus* (Pavletic, 2010).

2.2 Luka dan Proses Penyembuhan Luka

Luka adalah rusak atau hilangnya jaringan tubuh yang terjadi karena adanya suatu faktor yang mengganggu sistem perlindungan tubuh. Faktor tersebut seperti adanya trauma, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik, atau gigitan hewan. Luka dapat merupakan kejadian yang sengaja dibuat untuk tujuan tertentu, seperti luka insisi pada operasi. Bentuk dari luka berbeda tergantung dari penyebab terjadinya luka, yaitu dibedakan menjadi luka terbuka dan tertutup. Salah satu contoh luka terbuka adalah luka insisi dimana terdapat robekan linier pada kulit dan jaringan di bawahnya. Salah satu contoh luka tertutup adalah hematoma dimana pembuluh darah yang pecah menyebabkan berkumpulnya darah di bawah kulit (Eslami, 2009).

Tubuh memiliki respon fisiologis terhadap luka yakni proses penyembuhan luka. Proses penyembuhan luka terdiri dari berbagai proses yang kompleks untuk mengembalikan integritas jaringan. Secara garis besar, penyembuhan luka terdiri

dari empat fase utama, yakni fase hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase *remodeling* (Kumar, 2007). Proses ini dimediasi oleh berbagai sel, sitokin, matriks, dan *growth factor*. Masing – masing fase memiliki proses biologis dan peranan sel yang berbeda.



Gambar 2.3 Fase penyembuhan luka (Prabakti, 2005)

1. Fase Hemostasis

Saat terjadi luka yang menembus epidermis, akan terjadi proses pendarahan akibat adanya kerusakan pembuluh darah. Tubuh melakukan mekanisme untuk menghentikan pendarahan meliputi kontraksi otot polos pembuluh darah, agregasi trombosit, dan koagulasi darah. Kontraksi otot polos pembuluh darah menyebabkan berkurangnya aliran darah ke luka yang menyebabkan hipoksia dan asidosis pada jaringan. Hal tersebut meningkatkan produksi oksida nitrat, adenosin, dan metabolit vasoaktif yang menyebabkan refleks vasodilatasi. Histamin akan disekresi oleh sel mast yang meningkatkan vasodilatasi dan permeabilitas pembuluh darah. Proses ini memfasilitasi diapedesis sel radang ke jaringan luka (Kane, 1997, Harper, 2014). Hemostasis juga terjadi karena trombosit yang keluar dari pembuluh darah saling

melengket, dan bersama jala fibrin yang terbentuk, membekukan darah yang keluar dari pembuluh darah. Platelet tidak hanya berfungsi membentuk bekuan darah tetapi juga menghasilkan beberapa *growth factor* seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF), dan *transforming growth factor- β* (TGF- β) (Gurtner, 2007).

2. Fase inflamasi

Fase inflamasi berlangsung sejak terjadinya luka hingga kurang lebih hari kelima. Jaringan yang rusak dan sel mast akan melepaskan histamin dan mediator lain, sehingga menyebabkan vasodilatasi pembuluh darah sekeliling yang masih utuh, serta meningkatnya penyediaan darah ke daerah tersebut. Hal ini menyebabkan daerah di sekitar luka menjadi merah dan hangat. Permeabilitas kapiler darah meningkat dan cairan yang kaya akan protein mengalir ke dalam spasi interstisial, menyebabkan edema lokal. Leukosit polimorfonuklear dan makrofag mengadakan migrasi ke dalam daerah yang rusak sebagai respon terhadap agen kemotaktik yang dipicu cedera. Leukosit polimorfonuklear dan makrofag akan melakukan pembersihan terhadap jaringan mati dan bakteri. Sel-sel tersebut dapat merangsang pembentukan fibroblast dan angiogenesis (Morison, 2004).

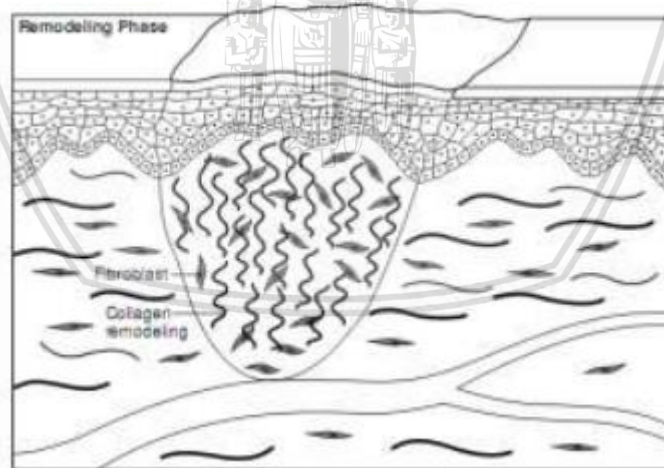
3. Fase proliferasi

Pada fase ini terjadi penurunan jumlah sel – sel inflamasi, tanda – tanda radang berkurang, munculnya sel fibroblast yang berproliferasi, pembentukan pembuluh darah baru, epitelialisasi dan kontraksi luka. Matriks fibrin yang dipenuhi platelet dan makrofag mengeluarkan *growth factor* yang mengaktifasi fibroblast. Fibroblast bermigrasi ke daerah luka dan mulai berproliferasi hingga jumlahnya lebih dominan dibandingkan sel radang pada daerah tersebut. Pada fase proliferasi, fibroblast meletakkan substansi dasar dan serabut serabut kolagen. Ketika kolagen

diletakkan, maka terjadi peningkatan yang cepat pada kekuatan renggangan luka. Kapiler-kapiler dibentuk oleh tunas endothelial, suatu proses yang disebut dengan angiogenesis. Jaringan yang dibentuk dari kapiler baru disebut dengan jaringan granulasi yang berwarna merah terang (Morison, 2004).

4. Fase *remodeling*

Fase *remodelling* merupakan fase penyudahan dari penyembuhan luka dan merupakan fase terlama yang berlangsung dari hari ke-21 dan bisa sampai 1 tahun. Pada gambar 2.4 tampak bahwa pada fase ini dimulai segera setelah kavitas luka terisi oleh jaringan granulasi dan proses reepitelialisasi usai. Tubuh berusaha menormalkan kembali semua yang menjadi abnormal karena proses penyembuhan. Edema dan sel radang diserap, sel muda menjadi matang, kapiler baru menutup dan diserap kembali, kolagen yang berlebih diserap dan sisanya mengerut sesuai dengan regangan yang ada (Gurtner, 2007).



Gambar 2.4 Fase remodeling penyembuhan luka (Gurtner, 2007)

2.3 Infeksi Nosokomial

Inkesi nosokomial atau biasa juga disebut *hospital acquired infection* merupakan suatu infeksi yang didapatkan oleh pasien yang sedang mendapat perawatan di rumah sakit. Infeksi nosokomial juga dapat terjadi pada petugas kesehatan yang bekerja di rumah sakit. Menurut studi yang dilakukan WHO, menunjukkan bahwa prevalensi paling tinggi infeksi nosokomial terjadi pada luka operasi, dan pasien penderita ortopedi yang sedang mendapat perawatan *intensive* di rumah sakit. Infeksi nosokomial pada luka operasi ditandai dengan adanya *discharge purulen* di sekitar luka, abses atau selulitis yang meluas dari luka (WHO, 2002).

Menurut Nasution (2012), kriteria infeksi nosokomial antara lain:

1. Pada waktu pasien mulai dirawat di rumah sakit tidak didapatkan tanda klinis infeksi tersebut.
2. Pada waktu pasien mulai dirawat di rumah sakit tidak sedang dalam masa inkubasi infeksi tersebut.
3. Tanda klinis infeksi tersebut baru timbul sekurang-kurangnya 48 jam sejak mulai perawatan.
4. Infeksi tersebut bukan merupakan sisa infeksi sebelumnya.

Infeksi nosokomial dapat disebabkan virus, bakteri, jamur, atau parasit. Mikroorganisme yang sering menimbulkan infeksi nosokomial pada luka antara lain *Staphylococcus aureus* 20%, *Pseudomonas aeruginosa* 16%, *Coagulase-negative Staphylococci* 15%, *Enterococci*, jamur, *Enterobacter*, dan *Escherichia coli* < 10%.

Infeksi nosokomial dapat disebabkan sistem imun pasien yang rendah, pemberian obat imunosupresif, obat antimikroba, serta tranfusi darah dalam keadaan tidak steril. Penularan di rumah sakit dapat terjadi karena kontak langsung terhadap pasien yang terinfeksi, udara, makanan, air, obat, alat yang terkontaminasi, serta melalui vektor biologis (Horran, *et al.*, 2008, Milton, *et al.*, 2015, Nasution, 2012).

2.4 *Stapylococcus aureus*

Stapylococcus aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Koloni pada pembenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. *Stapylococcus aureus* merupakan flora normal pada kulit dan selaput mukosa (Fischetti, *et.al.*, 2000).

Faktor virulensi *S. aureus* antara lain: (1) Protein permukaan seperti protein A, adhesin, hemaglutinin, glikoprotein, dan fibronektin yang membantu kolonisasi dalam jaringan hospes; (2) Invasin seperti *leukocidin*, *kinase*, dan *hyaluronidase* yang membantu bakteri menyebar dalam jaringan; (3) Faktor permukaan yang menghalangi fagositosis seperti kapsul dan protein A; (4) Faktor biokimia seperti karotenoid dan produksi katalase yang meningkatkan ketahanan bakteri di dalam fagosit (5) Reaksi imunologis (protein A, *coagulase*, *clotting factor*); (6) Toksin merusak membran (*hemolysin*, *leukotoxin*, *leukocidin*) dan eksotoksin (Todar, 1998 dalam Dewi, 2013).

Staphylococcus aureus merupakan penyebab infeksi nosokomial pada luka yang paling sering terjadi. *Staphylococcus aureus* penyebab infeksi nosokomial dapat masuk ke dalam luka dikenali oleh struktur *pathogen associated molecular patterns* (PAMP), seperti lipopeptida dan peptidoglikan bakteri. Reseptor untuk PAMP adalah *toll-like receptor* (TLR) yang diekspresikan pada neutrofil, makrofag, epidermis dan sel endotel. Ketika TLR sel mengikat produk asing, sel diaktifkan untuk menghasilkan mediator proinflamasi, termasuk sitokin (TNF- α , IL-1), molekul adhesi (integrin, selectins) dan *growth factor*. Mediator proinflamasi akan memulai fase inflamasi pada proses penyembuhan luka. Fase inflamasi ditandai dengan migrasi leukosit ke dalam luka, yang terjadi dalam waktu 6 jam dari terbentuknya luka (Williams dan Moores, 2009).

2.5 Transforming Growth Factor β (TGF β)

Transforming Growth Factor β (TGF β) adalah sitokin polipeptida multifungsi yang disekresikan oleh berbagai sel dalam tubuh seperti platelet, lymphocytes T, makrofag, sel endotel, kreatinosit, sel-sel otot polos, hepatosit, eosinofil, dan fibroblast. TGF β memiliki sifat kemotaktik mirip dengan PDGF (*Platelet Derived Growth Factor*) dan limfosit. Seperti PDGF, TGF β berperan dalam proses angiogenesis dan fibroplasias serta migrasi kreatinosit. TGF β juga dapat merangsang produksi TIMP (*Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase*) sebagai inhibitor terjadinya inflamasi, dan jika respon inflamasi selesai maka ekspresi sitokin proinflamatori dan jumlah sel radang akan menurun. Ekspresi TGF β dipicu oleh adanya infeksi atau keadaan hipoksia dan iskemia jaringan atau sel (Kristianto, 2010).

Peran TGF β adalah sebagai faktor pertumbuhan yang memiliki fungsi penting dalam proliferasi dan migrasi fibroblast, perbaikan jaringan serta meningkatkan sintesis kolagen yang berhubungan dengan pembentukan jaringan parut. Bila sekresinya terhambat maka akan terbentuk jaringan parut yang meluas, yang dikenal dengan sebutan keloid (scar). Tetapi bila sekresinya meningkat maka kolagen sebagai unsur jaringan ikat pada penyembuhan luka akan turut meningkat, sehingga luka akan sembuh lebih cepat dan lebih baik. TGF β ini dapat terekspresi pada sel radang, fibroblast, dan sel endotel dan intensitasnya bervariasi dari lemah hingga kuat (Troef, 2012).

2.6 Virgin Coconut Oil (VCO)

Virgin Coconut Oil (VCO) adalah minyak kelapa yang dihasilkan dari buah kelapa segar. *Virgin Coconut Oil* sendiri dihasilkan dari pengolahan daging buah kelapa tanpa melakukan pemanasan atau dengan pemanasan suhu rendah sehingga menghasilkan minyak dengan warna yang jernih, tidak tengik dan terbebas dari radikal bebas akibat pemanasan. *Virgin Coconut Oil* (VCO) merupakan salah satu bahan pangan sumber lemak yang saat ini banyak diminati karena khasiatnya bagi kesehatan. *Virgin Coconut Oil* (VCO) bermanfaat bagi kesehatan tubuh, hal ini disebabkan *Virgin Coconut Oil* (VCO) mengandung banyak asam lemak rantai menengah (*Medium Chain Fatty Acid* / MCFA). MCFA yang paling banyak terkandung dalam *Virgin Coconut Oil* (VCO) adalah asam laurat (*Lauric Acid*) (Handayani, 2010). Menurut Alamsyah (2005) menyatakan bahwa VCO mengandung 92% asam lemak jenuh yang terdiri dari 48 – 53 % asam laurat, 1,5 – 2,5 % asam oleat, asam lemak lainnya seperti 8% asam kaprilat, dan 7% asam kaprat.

Kandungan asam laurat pada VCO, secara alami terkandung pula pada susu ibu dengan fungsi utama untuk memperkuat sistem kekebalan tubuh alami. Di dalam tubuh manusia asam laurat akan diubah menjadi monolaurin, merupakan monoester yang telah diteliti memiliki aktivitas antivirus, antibakteri dan antijamur. Aktivitas antibakteri dari asam lemak monolaurin dipengaruhi oleh pH yang merupakan faktor penentu bakteri dapat mati atau hanya terinaktivasi, pH asam lemak rantai pendek (kaproat, kaprilat, dan kaprat) yang berfungsi baik sebagai antibakteri adalah 6,5 – 7,5, namun untuk asam lemak rantai sedang (laurat) pH minimum 6,5 telah mampu membunuh bakteri. Penelitian lain menunjukkan bahwa salah satu efek antibakteri karena monolaurin membentuk signal transduksi atau toksin. Monolaurin diduga mengakibatkan kerusakan membran, menyebabkan kebocoran protein intraseluler dan asam nukleat, sehingga menurunkan aktivitas enzim yang berfungsi dalam metabolisme bakteri (Asriani, 2007).

Metode pembuatan VCO umumnya dapat dilakukan menggunakan dua cara yaitu cara kering dan cara basah. Ekstraksi minyak secara kering dilakukan dengan cara pengepresan kopra (kelapa kering), kemudian dilakukan pemurnian pada minyak yang dihasilkan. Ekstraksi minyak secara basah dapat dilakukan dengan proses pemanasan, fermentasi, pengasaman dan penambahan enzim (Arsa dkk., 2004). Salah satu metode yang dapat meningkatkan rendemen maupun kualitas minyak adalah dengan menghidrolisis proteinnya sehingga minyak dapat lepas dari ikatan lipoprotein. Sudarmadji dkk, (1989) bahwa hidrolisis protein dapat dilakukan dengan menambahkan larutan asam, basa, dan enzim. Senyawa asam yang terdapat pada buah jeruk nipis dapat menurunkan pH krim santan, jeruk nipis mengandung asam sitrat ($C_6H_8O_7$) 7-7,6% dalam 100 gram. Asam sitrat dapat

membantu pada proses pembuatan minyak kelapa, karena ketika air jeruk nipis bereaksi dengan krim santan maka akan lebih mempercepat proses pemisahan antara fase minyak dan airnya. Berdasarkan pada penelitian Suastuti (2009) dalam pembuatan minyak kelapa sebelum fermentasi nilai pH krim santan 6,25 dan setelah fermentasi menjadi pH 4,25 sedangkan penelitian David (1989) pH 4,25 kondisi krim santan berada pada keadaan isoelektrik. Keadaan ini menyebabkan protein kehilangan sifatnya sebagai emulsifier sehingga terjadi pemisahan minyak dengan airnya.

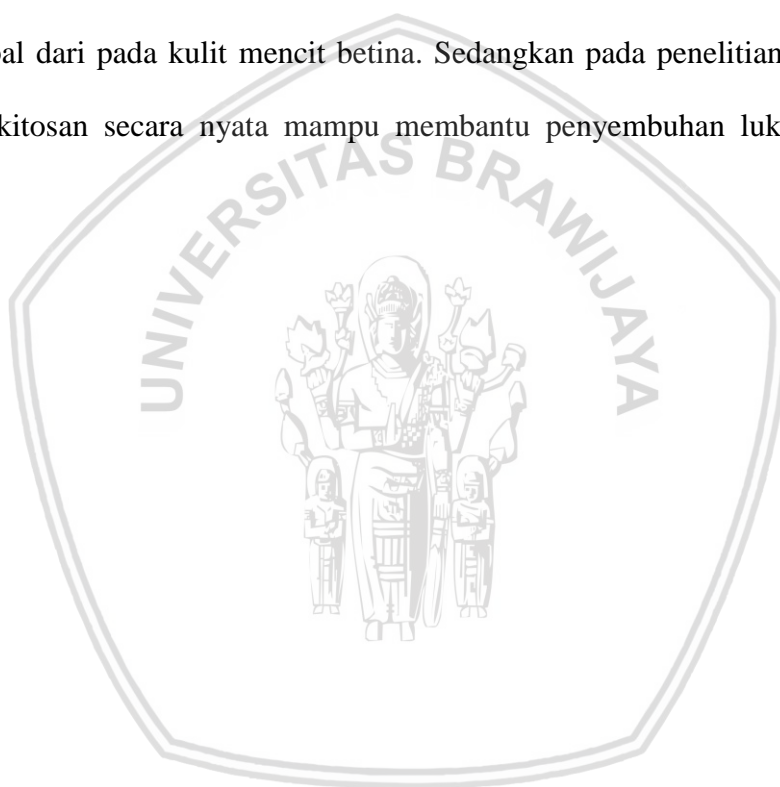
Metode pembuatan VCO dengan cara pengasaman yaitu metode denaturasi protein dikarenakan terbentuknya *ion zwitter* pada kondisi iso elektronik. *Zwitter ion* terbentuk karena molekul memiliki adanya muatan yang berlawanan dimasing-masing ujungnya. Protein sendiri mengandung gugus -NH yang lebih memiliki muatan positif dan gugus karboksilat yang bermuatan negatif. Untuk dapat mencapai kondisi iso elektronik ini, maka santan dibuat dalam kondisi asam (Fajrin, 2012).

2.7 Mencit (*Mus musculus*)

Berdasarkan Tahani (2013), klasifikasi mencit adalah sebagai berikut:

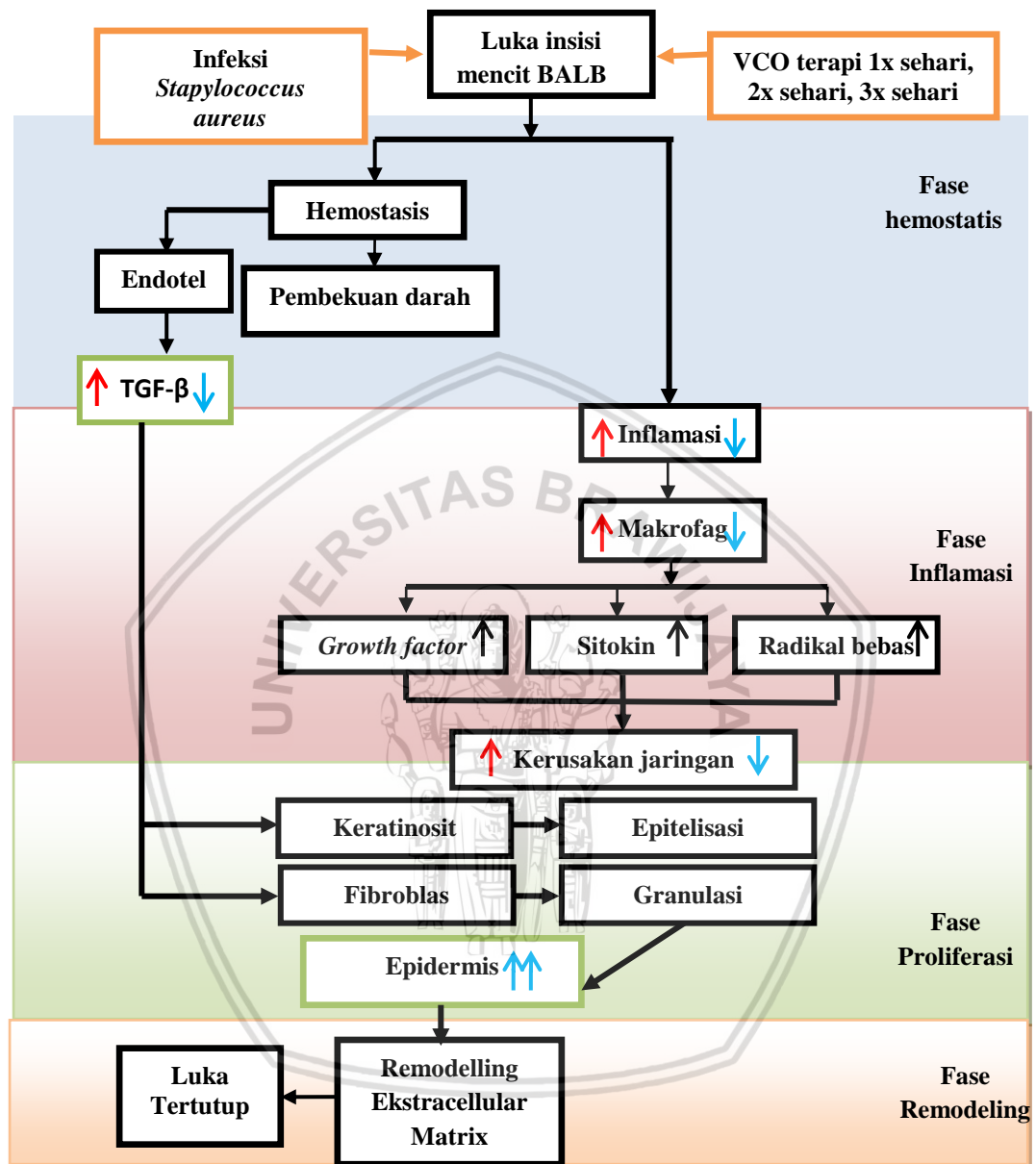
Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: Mus
Spesies	: <i>Mus musculus</i>

Berbagai galur inbred dan outbred pada mencit memiliki sifat-sifat yang terkait pada penyakit manusia, misalnya tahap penyembuhan luka. Penelitian yang dilakukan oleh Atik dan Iwan 2009 menggunakan mencit sebagai hewan model insisi yang diterapi menggunakan *Aloe vera* memiliki tingkat kesembuhan yang cepat. Pada penelitian tentang kesembuhan luka infeksi *Stapylococcus aureus* digunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*) jantan strain BALB/c (Umar, dkk., 2012). Menurut Dao dan Kazin (2010), mencit jantan memiliki ketebalan kulit 40% lebih tebal dari pada kulit mencit betina. Sedangkan pada penelitian Djamaludin (2009), kitosan secara nyata mampu membantu penyembuhan luka pada kulit mencit.

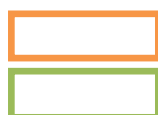


BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Keterangan :



: efek luka infeksi nosokomial



: efek terapi VCO



: stimulasi

Rangkaian proses penyembuhan luka dimulai sesaat setelah proses luka terjadi. Luka yang diinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus* akan menyebabkan kerusakan pada jaringan kulit. Kerusakan tersebut akan memicu terjadinya fase hemostasis yang berfungsi untuk menghentikan pendarahan. Serangkaian proses hemostasis dimulai dengan aktivasi platelet, platelet yang keluar dari pembuluh darah akan mengeluarkan trombokinase. Trombokinase akan mengubah protrombin menjadi trombin dan trombin akan mengubah fibrinogen menjadi benang-benang fibrin. Terbentuknya benang-benang fibrin akan menyebabkan luka menjadi tertutup sehingga darah tidak mengalir keluar. Pada fase ini, endotel dan jaringan yang rusak akan menghasilkan mediator pro-inflamatori, dan *growth factor* salah satunya adalah TGF β . Selanjutnya luka akan mengalami fase inflamasi. Inflamasi ditandai dengan terjadinya vasodilatasi di sekitar jaringan luka dan migrasi leukosit salah satunya monosit. Pada fase inflamasi, monosit akan berubah menjadi makrofag. Makrofag yang telah aktif akan melepaskan PDGF dan TGF- β yang akan menarik fibroblast ke lokasi luka. Selain itu makrofag juga aktif dalam proses fagositosis untuk menyingkirkan jaringan mati, dan melawan infeksi oleh bakteri patogen. Makrofag akan menghasilkan *growth factor*, sitokin, dan radikal bebas. Fase inflamasi terjadi kurang lebih satu hingga lima hari. Setelah fase inflamasi selesai maka sel radang akan menurun.

Pemberian terapi VCO mampu mempersingkat fase inflamasi sehingga ekspresi TGF- β akan meningkat. Mekanisme VCO dalam mempersingkat inflamasi yaitu dengan cara menghambat sintesis mediator inflamasi seperti *histamine*, dan prostaglandin. Terhambatnya *histamine* mampu menurunkan peningkatan permeabilitas vaskuler. Terhambatnya prostaglandin menyebabkan

vasokonstriksi vaskuler sehingga akan sulit dilalui oleh larutan protein yang berupa koloid. Penurunan permeabilitas tersebut menyebabkan penurunan jumlah cairan yang keluar dari pembuluh darah kapiler sehingga tidak terbentuk edema. Pendeknya fase inflamasi, akan semakin cepat menuju fase berikutnya, yaitu fase proliferasi.

Fase proliferasi merupakan fase dimana fibroblast menjadi dominan di lokasi luka. Fungsi utama dari fibroblas adalah sintesis kolagen sebagai komponen utama ECM. Pada fase ini juga terjadi revaskularisasi dengan pembentukan pembuluh darah baru atau disebut sebagai angiogenesis. Jaringan yang telah dibentuk dari kapiler menghasilkan jaringan granulasi yang berwarna merah terang. Asam lemak VCO adalah bioaktif molekul yang mampu memodulasi proliferasi sel, *cell signaling*, dan aktivitas *growth factor*. *Growth factor* tersebut berfungsi untuk merangsang pertumbuhan dan proliferasi dari sel luka seperti keratinosit dan fibroblas untuk bermigrasi ke dalam bagian ruang luka. Kandungan asam laurat VCO yang tinggi juga berfungsi untuk melembabkan kulit. Kelembaban diperlukan untuk aktivitas faktor pertumbuhan, pengiriman oksigen, aktivitas permulaan enzim proteolitik dan lebih efektif dalam pengiriman nutrisi. Kulit yang terjaga kelembabannya oleh pemberian VCO akan meningkatkan proses reepitelisasi dan meningkatkan sintesis kolagen. Selain itu, fibroblast juga akan berproliferasi dan membentuk granulasi.

Tahap terakhir dari proses penyembuhan luka adalah fase *remodelling*. Pada fase ini fibroblast berproliferasi membentuk matriks ekstraseluler yang mengandung myofilamen dan disebut myofibroblast dimana matriks ini akan

bermigrasi ke area luka dan berkontraksi untuk mengurangi ukuran luka sehingga daerah luka akan tertutup.

3.2 Hipotesis Penelitian

1. Terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) dapat meningkatkan ekspresi TGF- β pada luka hewan model nosokomial.
2. Terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) dapat meningkatkan ketebalan epidermis kulit dari gambaran histopatologi pada luka hewan model nosokomial.



BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan Maret 2018 dan dilakukan di beberapa laboratorium yaitu :

1. Pemeliharaan hewan coba dan pemberian perlakuan hewan coba di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* 10^5 CFU/ml dan pembacaan hasil histopatologi kulit di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang.
3. Pembuatan VCO (*Virgin Coconut Oil*) dengan pengasaman jeruk nipis di Laboratorium Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Uji *flowcytometry* untuk pengamatan kadar relatif TGF- β yang dilakukan di Laboratorium Biomolekuler FMIPA Universitas Brawijaya, Malang.
5. Pembuatan preparat histopatologi kulit dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

1.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kandang mencit, *dissecting set*, *beaker glass*, kertas saring, wadah plastik, desikator, mikroskop, glove, masker, cawan petri, bunsen, autoklaf, spektroskopi FTIR, serta alat untuk uji *flowcytometry* seperti *yellow tip*, *blue tip*, *mortir*, *sentrifuge tube*, *flowcytometer* dan *software BD Cell Quest ProTM*.

Bahan yang dipersiapkan dalam penelitian ini antara lain mencit (*Mus musculus*) BALB/c jantan dengan berat 30 g berumur 8 minggu, benang *silk* 4/0, jarum tapper ½, GT 35 mm, kelapa, jeruk nipis, alkohol 70 %, ketamine HCl, xylazine, media MSA, media NA *slant*, media NB, media MHA, aquades pro inj, formalin 10%, antibodi anti TGF-β, *cytofix*, *cytoform*, pewarnaan *Hematoksilen-Eosin*, NaCl fisiologis 0,9%, dan xylol.

4.3 Sampel Penelitian

Kriteria hewan model yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) BALB/c jantan dengan berat 30 g berumur 8 minggu. Penelitian ini menggunakan 5 perlakuan, sehingga banyaknya perlakuan yang diperlukan dalam penelitian dihitung dengan menggunakan rumus $t(n-1) \geq 15$ (Montgomery and Kowalsky, 2011) :

$$t(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

t : Jumlah perlakuan

n : Jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan untuk 5 perlakuan diperlukan jumlah ulangan minimal 4 kali dalam setiap kelompok sehingga dibutuhkan 20 ekor mencit.

4.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan *post control only*. Tiap kelompok terdiri dari beberapa kelompok perlakuan mencit. Kelompok perlakuan dalam penelitian ini antara lain adalah:

1. Kelompok 1 (K-) : mencit diinsisi dan dijahit dengan benang *silk* secara aseptis dan diberikan terapi menggunakan antibiotik *neomycin sulfate* dan *bacitracin* secara topikal sebanyak 3 kali sehari.
2. Kelompok 2 (K+) : mencit diinsisi dan dijahit benang terkontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* tanpa pemberian terapi
3. Kelompok 3 (P1) : mencit diinsisi dan dijahit benang terkontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* serta terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) satu kali sehari.
4. Kelompok 4 (P2) : mencit diinsisi dan dijahit benang terkontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* serta terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) dua kali sehari.
5. Kelompok 5 (P3) : mencit diinsisi dan dijahit benang terkontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* serta terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) tiga kali sehari.

4.5 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

- a. Variabel bebas : Dosis terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) dan bakteri *Staphylococcus aureus* 10^5 CFU/ml.
- b. Variabel terikat : Ketebalan epidermis dan ekspresi TGF- β .

- c. Variabel kontrol : Homogenitas mencit meliputi jenis kelamin, berat badan, umur, pakan, dan kandang serta perlakuan luka model nosokomial.

1.6 Prosedur Kerja

1.6.1 Persiapan Hewan Coba

Mencit yang digunakan dalam penelitian ini adalah spesies *Mus musculus* galur BALB/c jantan, berat 30 g, umur 8 minggu. Mencit diadaptasi selama tujuh hari sebelum digunakan untuk penelitian. Menurut Muliani (2011), hewan coba diberi minum *ad libitum* dan pakan berbentuk pelet sebanyak 10% berat badan setiap pagi dan sore. Pakan diberikan sebanyak 3 g per hari. Mencit dibagi dalam lima kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari empat ekor mencit dalam satu kandang. Kandang mencit berbahan plastik dengan tutup kawat dan diberi alas berupa sekam kayu agar kandang tidak lembab. Mencit dipelihara di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.

1.6.2 Pembuatan VCO dengan pengasaman Perasan Jeruk Nipis

Bahan baku VCO (*Virgin Coconut Oil*) diperoleh dari Pasar Blimbing, Malang. Kelapa yang digunakan untuk pembuatan VCO yaitu kelapa yang tua dan segar. Kelapa yang digunakan dibersihkan dari serabut dan kulit kelapa yang melekat menggunakan pisau. Lalu daging kelapa diparut dan diletakkan dalam wadah plastik besar. Parutan kelapa dicampur dengan air bersih kemudian diperas. Hasil perasan kelapa ditampung di dalam toples plastik. Proses pemerasan kelapa ini dilakukan

dua kali. Jadi, ampas hasil perasan pertama dicampur lagi dengan air bersih, lalu diperas dan hasil perasan disaring dan ditampung di dalam toples plastik. Air hasil perasan yang ada di toples plastik didiamkan sekitar 2 jam, sehingga terdapat 2 lapisan. Lapisan atas adalah kanil (krim) dan bagian bawah adalah air (skim). Setelah air terbang, proses selanjutnya kanil (krim) dapat diolah dengan metode pengasaman dengan menambahkan perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 1% (Qosimah, 2017).

Proses pendiaman dilakukan selama 10 jam, selanjutnya akan terbentuk tiga lapisan yaitu lapisan pertama berada paling bawah adalah air, lapisan kedua berada ditengah adalah blondo dan lapisan ketiga yang paling atas minyak. Minyak yang berada di lapisan atas adalah minyak VCO. Cara mengambil minyak dengan memasukkan selang kecil, lalu disedot dan ditampung dalam wadah yang telah disiapkan. Selanjutnya untuk menghindari masuknya bakteri dan membuang kadar air, maka dilakukan penyaringan. Penyaringan ini sangat penting agar selain kadar air bisa mencapai 0,015%, juga supaya minyak tidak berbau tengik (Qosimah, 2017).

1.6.3 Pembuatan Suspensi Bakteri *Staphylococcus aureus* 10^5 CFU/ml

Kultur murni *Staphylococcus aureus* dalam NA *Slant* miring yang telah diremajakan selama 3 hari berturut-turut diinokulasikan 1 ose ke dalam 2 ml NB steril kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kultur cair *S. aureus* dalam NB steril disetarakan dengan larutan standar 1 McFarland I (populasi $\pm 3 \times 10^8$ CFU/ml). Selanjutnya, biakan bakteri

diencerkan dengan NB steril hingga konsentrasinya menjadi 10^5 CFU/ml (Sujono, 2010).

Identifikasi bakteri *S. aureus* dapat dilakukan dengan mengamati karakteristik pertumbuhan bakteri pada media MSA (*Mannitol Salt Agar*). MSA dapat digunakan sebagai media selektif untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus* lainnya (Oscarina, 2015). Jika Bakteri *Staphylococcus aureus* positif tumbuh pada media MSA, media dan koloni berwarna kuning karena terjadi fermentasi manitol menjadi asam. Produk yang dihasilkan bakteri ini adalah asam organik yang mengubah pH di MSA, sehingga warna merah pada media MSA menjadi kuning cerah dan hasil negatif tidak ada perubahan warna (Tambayong, 2009).

1.6.4 Identifikasi dan Uji Sensitifitas terhadap *Staphylococcus aureus*

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini diuji sensitifitas terhadap antibiotik dengan metode difusi cakram kertas. Pada uji ini beberapa jenis antibiotik pada cakram kertas diletakkan di permukaan medium Mueller-Hinton agar yang telah diolesi *S. aureus* yang digunakan. Kemudian dilakukan inkubasi selama 24 jam dan diamati zona hambatnya (Sari, 2015). Antibiotik yang digunakan antara lain *penicillin*, *ampicillin*, *gentamicin*, *levofloxacin*, *tetracyclin*, dan *ciprofloxacin*. Menurut Afifurrahman (2014) uji resistensi untuk *S. aureus* dapat menggunakan antibiotik golongan β -laktam, termasuk golongan *penicillinase-resistant penicillins* (*oxacillin*, *methicillin*, *nafcillin*, *cloxacillin*, *dicloxacillin*), cephalosporin dan carbapenem. Selain itu, resistensi silang juga terjadi

pada antibiotik non- β -laktam seperti *erythromycin*, *clindamycin*, *gentamicin*, *cotrimoxazole*, dan *ciprofloxacin*.

Uji sensitifitas terhadap antibiotik dilakukan dengan cara bakteri *Stapylococcus aureus* pada biakan cair diinokulasikan pada media MHA (*Mueller Hinton Agar*), dengan cara mencelupkan *cotton bud* steril pada biakan cair bakteri *Stapylococcus aureus*, kemudian *cotton bud* steril diusapkan pada seluruh permukaan media MHA sampai merata dan biakan tersebut didiamkan selama 5 menit. Setelah itu diletakkan disk antibiotik menggunakan pinset di atas biakan bakteri. Media MHA selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian diukur dalam satuan mm diameter zona hambat yang terbentuk pada disk antibiotik dan dibandingkan dengan standar dari NCCLS (*National Committee For Clinical Laboratory Standart*) (Krishna, 2013).

1.6.5 Pembuatan Benang Dikontaminasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Benang *silk* yang digunakan dikontaminasi dengan bakteri *S. aureus* 10^5 CFU/ml. Benang *silk* steril dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 8 ml dalam pengenceran suspensi *S. aureus*, dihomogenkan pada mixer vortex selama 10 detik, dan direndam dalam suspensi selama 30 menit. Selama periode ini, sekitar 10^5 sel terabsorpsi pada setiap segmen benang. Segmen yang telah direndam dikeluarkan dari tabung, dan dikeringkan dalam cawan petri lain yang steril sehingga benang tidak terkontaminasi oleh bakteri lainnya (Mcricpley and Whitney, 1976; Dai, 2011).

1.6.6 Pembuatan Luka Model Nosokomial pada Mencit

Perlakuan terhadap hewan model telah memperoleh persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian No. 907-KEP Universitas Brawijaya. Masing-masing mencit diberi label pada ekornya dengan menggunakan spidol tahan air sesuai kelompoknya. Kemudian mencit BALB/c jantan dianestesi menggunakan kombinasi *Ketamine HCl* (dosis 100 mg/kgBB) dan *Xylazine* (dosis 5 mg/kgBB). Lakukan pengenceran *Xylazine* 20 mg/ml sebanyak 0,5 ml dicampur dengan 19,5 ml aqua pro injeksi di dalam vial steril untuk mempermudah injeksi. *Ketamine HCl* 100 mg/ml sebanyak 2 ml dicampur dengan 18 ml aqua pro injeksi. Pemberian campuran *Ketamine HCl* – *Xylazine* secara intraperitonium volume 0.1 ml/10 g BB (Clouthier dan Luther, 2015; Plumb, 2008).

Mencit dilakukan pencukuran pada daerah punggung dan dibersihkan dengan alkohol 70 %. Insisi *longitudinal midline* sepanjang 2,5 cm kedalaman hingga *panniculus carnosus* kurang lebih 2-3mm menggunakan jangka sorong. Titik orientasi insisi adalah *vertebrae thoracalis* XIII sampai *vertebrae lumbalis* III, lokasi insisi berada di atas *musculus Longissimus dorsi*. Luka dijahit dengan benang *silk* 4/0 terkontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* (10^5 CFU/ml) (Dai, 2011). Penjahitan dilakukan dengan jarum *tapper* 1/2 GT 35 mm pola *simple continuous suture* dengan panjang benang 5 cm secara modifikasi pada *panniculus carnosus* (Mcricpley and Whitney, 1976). Perawatan *pasca* operasi dilakukan dengan cara memberikan terapi standar berupa antibiotik pada kontrol negatif, kontrol positif tidak diberikan perlakuan

apapun sedangkan kelompok P1, P2, dan P3 diberikan terapi VCO. Luka jahitan tidak diberikan *bandage* untuk memudahkan pemberian terapi.

1.6.7 Terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*)

Pemberian VCO dilakukan satu kali sehari, dua kali sehari, dan tiga kali sehari dengan cara mengoleskan VCO di area luka jahitan selama tujuh hari. VCO secara topikal diberikan dengan volume 1 tetes (50 μ l) per ekor mencit. Setiap hari dilakukan pengamatan terhadap penyembuhan luka secara makroskopis (Palumpun, 2017).

1.6.8 Pengambilan Jaringan Kulit

Pengambilan kulit pada hewan coba mencit (*Mus musculus*) BALB/c jantan dilakukan pada hari ke-8 dan dilakukan eutanasi pada mencit dengan cara dislokasi servicalis dengan cara mencit diposisikan rebah dorsal. Daerah punggung yang akan diambil kulitnya dibersihkan dari bulu yang mulai tumbuh kembali, kulit digunting dengan ketebalan \pm 4 mm sampai dengan subkutan dengan luas 2x2 cm². Kulit yang diperoleh kemudian difiksasi dengan larutan *Buffer Neutral Formalin* atau BNF 10% dibiarkan pada suhu kamar selama \pm 48 jam (Febram, dkk., 2010). Bagian kulit lainnya yang akan digunakan sebagai sampel pengukuran kadar relatif TGF- β dimasukkan dalam PBS steril dan segera dilakukan pengukuran kadar relatif TGF- β menggunakan metode *flowcytometry*.

1.6.9 Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit

Jaringan kulit yang sudah dieksisi dimasukkan ke dalam larutan formalin 10% dengan waktu fiksasi jaringan 18-24 jam. Selanjutnya jaringan didehidrasi dalam larutan aseton 2x masing-masing selama 1 jam dan dilanjutkan *clearing* dalam larutan *xylol* 2x masing-masing selama 1

jam. Kemudian jaringan diinfiltrasi dalam larutan *xylol* parafin selama 1,5 jam dan parafin infiltrasi selama 1,5 jam. Jaringan ditanam dalam *parafin block* (**Lampiran 5**). Jaringan yang sudah padat dipotong setebal 5 mikron dengan mikrotom. Potongan jaringan ditempelkan pada kaca objek yang sebelumnya telah diolesi albumin-gliserin sebagai perekat. Jaringan pada kaca obyek diletakkan di atas *hot plate* hingga mengering (Balqis dkk., 2014). Gambaran histopatologi ketebalan epidermis kulit menggunakan *Hematoxylin-Eosin* (HE) (**Lampiran 6**). Ketebalan epidermis pada masing-masing kelompok perlakuan, diperiksa sesuai karakter patologik kulit. Ketebalan epidermis diamati dan diukur dengan menggunakan metode morfometri, mikroskop yang dihubungkan dengan alat optilab dengan pembesaran lensa obyektif 40x dan 100x. Gambar tersebut diolah dengan piranti lunak *Image Raster*, yaitu dengan mengukur tebal epidermis dalam satuan μm . Tebal epidermis adalah ukuran ketebalan lapisan-lapisan epidermis yang terbentuk pada daerah luka (Palumpun, 2017).

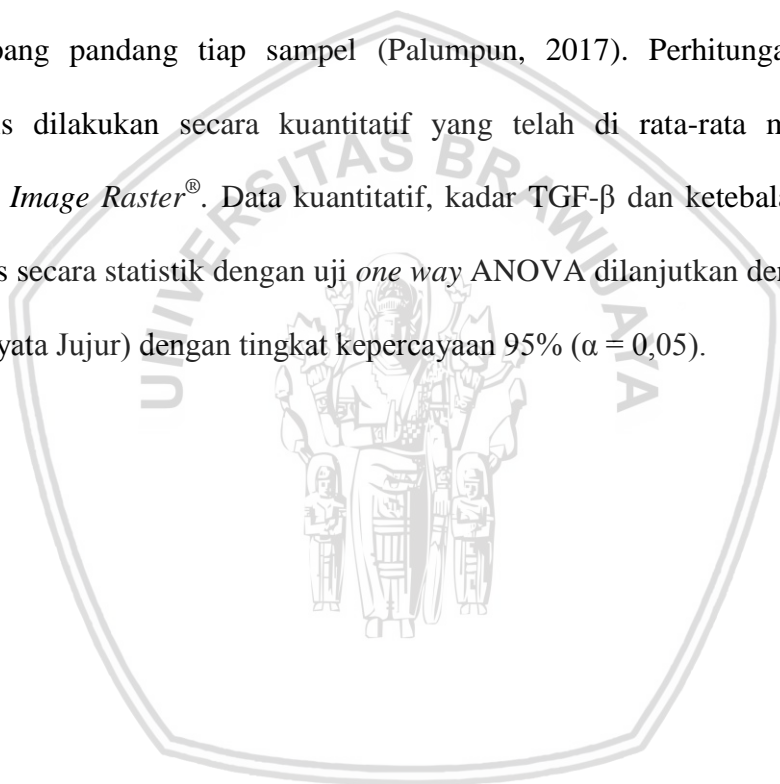
1.6.10 Pengukuran Kadar TGF- β menggunakan *Flowcytometry*

Sampel yang diuji dengan flowcytometri adalah kulit area luka dengan panjang 1,5 cm. Sampel dibilas dengan menggunakan PBS sebanyak dua kali, diletakkan dalam cawan petri berisi 5 ml PBS, digerus dan dihomogenisasi serta disuspensi dengan PBS. Sel-sel yang diperoleh dari hasil isolasi difilter dengan menggunakan *wire*, disentrifugasi 1500 rpm, pada suhu 20°C selama 5 menit. Hasil supernatan dibuang dan pelletnya direndam dalam cytofix dan cytoferm 100 μL selama 20 menit lalu ditambahkan 50 μL *antibody intraseluler staining* (anti TGF- β) yang

dikonjugasi dengan label PE. Data hasil *flowcytometry* dianalisis dengan *software* BD *cellquest Pro*TM. Program diatur sesuai dengan pewarnaan dan jenis sel yang diidentifikasi. *Gated* dilakukan berdasarkan pola ekspresi sel yang terlihat dalam layar komputer (Hefni, dkk., 2013) (Lampiran 7).

1.7 Analisa Data

Pengamatan parameter ketebalan epidermis dilakukan dengan mengamati lima lapang pandang tiap sampel (Palumpun, 2017). Perhitungan ketebalan epidermis dilakukan secara kuantitatif yang telah di rata-rata menggunakan *software* *Image Raster*[®]. Data kuantitatif, kadar TGF- β dan ketebalan epidermis dianalisis secara statistik dengan uji *one way* ANOVA dilanjutkan dengan uji BNJ (Beda Nyata Jujur) dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).



BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

1.1 Pengamatan Makroskopis Efek Terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) Pada Luka Insisi Hewan Model Infeksi Nosokomial

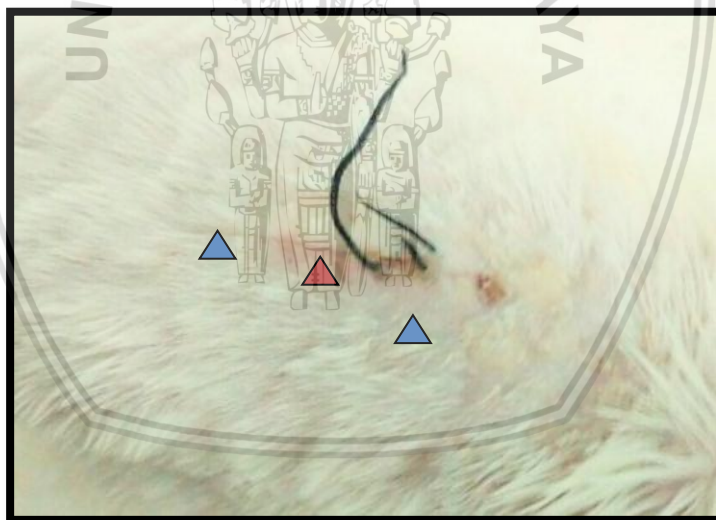
Luka adalah rusak atau hilangnya jaringan tubuh yang terjadi karena adanya suatu faktor yang mengganggu sistem pertahanan tubuh. Tubuh memiliki respon fisiologis terhadap luka yaitu proses penyembuhan luka. Proses penyembuhan luka yang baik sangat penting untuk mengembalikan struktur sel dan integritas jaringan. Selama proses ini terjadi, luka dapat mengalami infeksi nosokomial jika proses perawatan luka dilakukan dengan tidak baik. Penyebab infeksi nosokomial pada luka operasi paling tinggi disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dan biasanya telah mengalami *multidrug resistance*. Infeksi nosokomial yang terjadi pada kulit ditandai dengan pengelupasan kulit yang luas, terjadi sepsis, dan nekrosis epidermal (Nasution, 2012).

Gambaran kesembuhan luka terhadap luka insisi mencit (*Mus musculus*) model infeksi nosokomial dapat dilihat pada **Gambar 5.1** sampai **Gambar 5.5**. Luka kelompok negatif tergolong dalam luka bersih atau *clear wound* karena luka insisi tidak terkontaminasi. Kelompok kontrol negatif merupakan kelompok mencit yang diinsisi dan dijahit dengan benang *silk 4/0* secara aseptis. Pada hari kedelapan pasca operasi kontrol negatif tampak telah terjadi penutupan tepi luka, tidak mengalami inflamasi dan telah mengalami pertumbuhan rambut. Mencit dalam waktu ini sudah masuk dalam fase proliferasi (**Gambar 5.1**). Luka kelompok positif mengalami infeksi nosokomial yang ditandai dengan adanya inflamasi pada luka sehingga tergolong dalam *infected wound* atau luka terinfeksi.

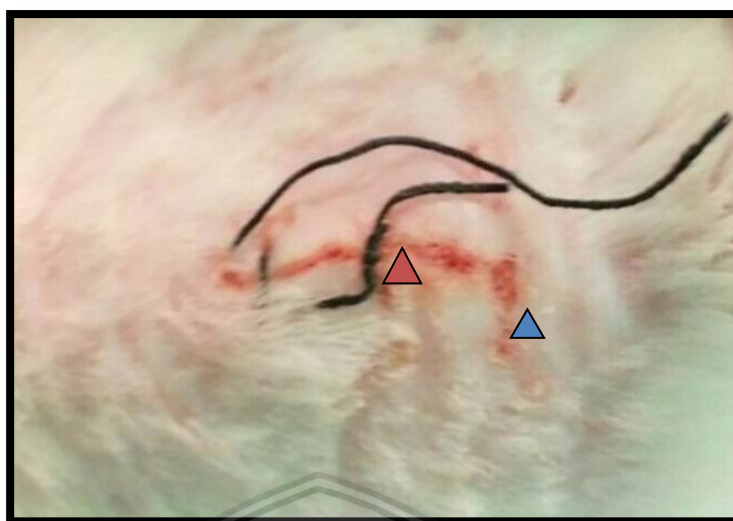
Kelompok kontrol positif merupakan kelompok mencit yang diinsisi dan dijahit dengan benang *silk* 4/0 dikontaminasi bakteri *Stapylococcus aureus* 10^5 CFU/ml. Pada hari kedelapan pasca operasi kontrol positif menunjukkan luka insisi sudah menutup namun masih mengalami inflamasi yang ditandai dengan adanya warna kemerahan pada luka (**Gambar 5.2**). Kelompok perlakuan 1 diberikan terapi VCO satu kali sehari menunjukkan luka sudah menutup dan mengering, rubor memudar, dan sudah tampak adanya pertumbuhan rambut, dalam waktu ini mencit telah masuk fase proliferasi (**Gambar 5.3**). Kelompok perlakuan 2 diberikan terapi VCO dua kali sehari menunjukkan luka sudah menutup namun belum mengering sempurna, rubor memudar, dan area di sekitar luka sudah ditumbuhi rambut, dalam waktu ini mencit telah masuk fase proliferasi (**Gambar 5.4**). Kelompok perlakuan 3 diberikan terapi VCO tiga kali sehari menunjukkan luka sudah menutup namun pertumbuhan rambut masih sedikit, dan masih ada sedikit rubor, dalam waktu ini mencit telah masuk fase proliferasi (**Gambar 5.5**). Tumbuhnya rambut pada daerah luka tersebut menunjukkan terjadinya proses regenerasi dan kondisi kulit sudah mulai kembali normal (Listyanti, 2006).

Pemberian terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) pada kelompok terapi yaitu dengan cara meneteskan satu tetes (50 μ l) VCO cair di area luka jahitan selama tujuh hari pasca operasi. VCO merupakan minyak kelapa yang dihasilkan dari buah kelapa segar. VCO mengandung banyak asam lemak rantai menengah atau MCFA (*Medium Chain Fatty Acid*). MCFA yang paling banyak terkandung dalam VCO adalah asam laurat yaitu sebesar 48 – 53 %. Di dalam tubuh asam laurat akan dirubah menjadi monolaurat, yang telah diteliti memiliki sifat antivirus, antibakteri dan antijamur. Aktivitas antibakteri dari asam lemak monolaurin

dipengaruhi oleh pH yang merupakan faktor penentu bakteri dapat mati atau hanya terinaktivasi, pH asam lemak rantai pendek (kaproat, kaprilat, dan kaprat) yang berfungsi baik sebagai antibakteri adalah 6,5 – 7,5, namun untuk asam lemak rantai sedang (laurat) pH minimum 6,5 telah mampu membunuh bakteri. VCO yang digunakan dalam penelitian ini telah dilakukan pengujian terhadap kadar pH dan kadar air (**Lampiran**). Kandungan asam laurat VCO yang tinggi juga berfungsi untuk melembabkan kulit. Kelembaban diperlukan untuk aktivitas faktor pertumbuhan, pengiriman oksigen, aktivitas permulaan enzim proteolitik dan lebih efektif dalam pengiriman nutrisi. VCO diyakini baik untuk kesehatan kulit karena mudah diserap kulit dan mengandung vitamin E (Setiani, 2014).



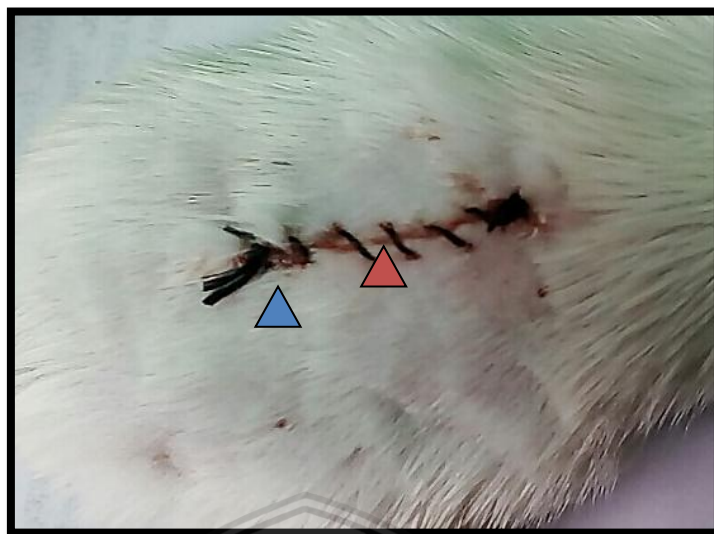
Gambar 5.1 Gambaran makroskopis perkembangan kesembuhan jaringan kulit mencit pada hari ke-8 pasca operasi kelompok kontrol negatif (▶ garis insisi menutup dan tidak terjadi inflamasi) (▶ pertumbuhan rambut area luka)



Gambar 5.2 Gambaran makroskopis perkembangan kesembuhan jaringan kulit mencit pada hari ke-8 pasca operasi kelompok kontrol positif (▶ garis insisi sudah menutup namun masih terjadi inflamasi) (▶ pertumbuhan rambut area luka)



Gambar 5.3 Gambaran makroskopis perkembangan kesembuhan jaringan kulit mencit pada hari ke-8 pasca operasi kelompok perlakuan 1 (▶ garis insisi menutup dan tidak terjadi inflamasi) (▶ pertumbuhan rambut area luka)



Gambar 5.4 Gambaran makroskopis perkembangan kesembuhan jaringan kulit mencit pada hari ke-8 pasca operasi kelompok perlakuan 2 (▶ garis insisi menutup dan tidak terjadi inflamasi) (▶ pertumbuhan rambut area luka)



Gambar 5.5 Gambaran makroskopis perkembangan kesembuhan jaringan kulit mencit pada hari ke-7 pasca operasi kelompok perlakuan 3 (▶ garis insisi menutup dan tidak terjadi inflamasi) (▶ pertumbuhan rambut area luka)

1.2 Efek Terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) Pada Luka Insisi Hewan Model

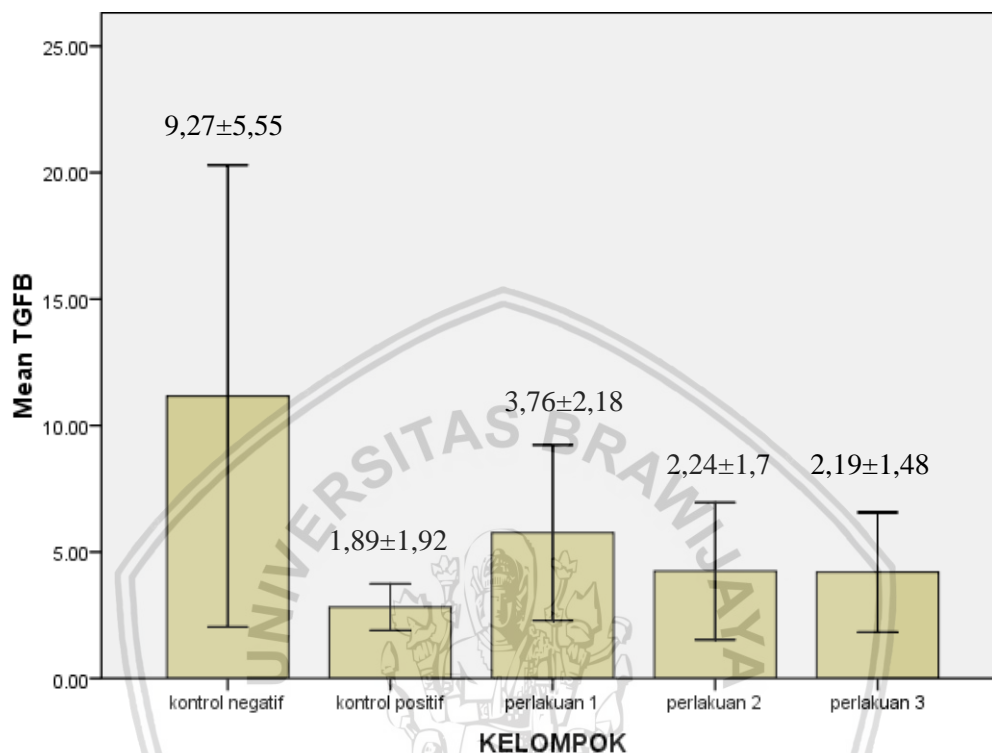
Infeksi Nosokomial Pasca Operasi Terhadap Kadar TGF β

Penyembuhan luka merupakan proses yang kompleks dan dinamis untuk mengembalikan struktur sel dan lapisan jaringan. Penyembuhan luka bukanlah proses linear yang sederhana dimana faktor-faktor pertumbuhan secara simultan mencetuskan pertumbuhan sel tetapi merupakan suatu integrasi dari proses interaktif yang dinamis, melibatkan banyak sel, matrik ekstraseluler dan mediator-mediator terlarut. Salah satu faktor pertumbuhan yang mempunyai peran utama dalam proses tersebut adalah TGF β . *Transforming Growth Factor Beta* (TGF β) merupakan sitokin multifungsional yang berperan penting dalam setiap fase penyembuhan. TGF β dilepaskan oleh trombosit, neutrofil, limfosit, sel plasma, makrofag dan fibroblast (Kristianto, 2010).

Pengukuran kadar dari TGF β dalam penelitian ini diamati secara kuantitatif menggunakan metode *flowcytometry* yang dianalisis dengan *software BD cellquest ProTM* untuk melihat efek terapi VCO yang diberikan. *Flowcytometry* merupakan teknik yang digunakan untuk menghitung dan menganalisa partikel makroskopis yang tersuspensi dalam aliran fluida (Cytopathol, 2009). *Flowcytometry* saat ini merupakan metode yang banyak digunakan karena menunjukkan ketepatan dan ketelitian yang cukup baik (Kresno, 2010).

Data perhitungan TGF β yang diperoleh dianalisa secara statistika sehingga diperoleh hasil bahwa rata-rata TGF β tertinggi terdapat pada kontrol negatif, terendah terdapat pada kontrol positif, dan adanya peningkatan pada setiap kelompok perlakuan jika dibandingkan dengan kontrol positif dengan

standar deviasi pada masing-masing kelompok pada rentang 1,48-5,58. Standar deviasi menunjukkan sebaran data dalam sampel. Histogram hasil rata-rata kadar TGF β berdasarkan *flowcytometry* ditunjukkan oleh **Gambar 5.2** berikut ini.



Gambar 5.6 Diagram rata-rata kadar TGF β (% sel)

Data pengukuran kadar TGF β jaringan kulit pada kelompok mencit perlakuan dilakukan analisa statistik menggunakan *Statistical Product of Service Solution* (SPSS) 15.0 dengan uji *one way* ANOVA dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) atau *Tukey* (**Lampiran 12**).

Berdasarkan statistika dilakukan uji normalitas dan homogenitas (**Lampiran 12**) menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dan homogen, setelah itu dilanjutkan dengan uji *one way* ANOVA. Pada uji *one way* ANOVA (**Lampiran 12**) diperoleh hasil $p < 0,05$. Hasil tersebut menunjukkan adanya pengaruh terapi yang diberikan pada proses penyembuhan luka insisi infeksi nosokomial pasca operasi berdasarkan kadar TGF β . Uji lanjutan yang dilakukan

yaitu uji Beda Nyata Jujur (BNJ) atau *Tukey* dan menunjukkan bahwa antar kelompok memiliki perbedaan rata-rata yang signifikan (**Lampiran 12**) dapat dilihat dalam **Tabel 5.1**.

Hasil uji *Tukey* terlihat perbedaan notasi yang ditunjukkan pada **Tabel 5.1** dan didapatkan hasil bahwa produksi kadar TGF β pada kelompok kontrol negatif berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok kontrol positif, hal ini menunjukkan bahwa pemberian antibiotik pada kontrol negatif memiliki potensi untuk terapi luka insisi dari peningkatan kadar TGF β . Kelompok perlakuan 2 dan 3 yang diberikan terapi VCO 2 kali dan 3 kali sehari berbeda nyata dengan kontrol negatif, sedangkan kelompok perlakuan 1 tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif, hal ini menunjukkan bahwa perlakuan 1 memiliki potensi untuk terapi luka insisi dari peningkatan kadar TGF β . Kontrol positif memiliki rata-rata kadar TGF β paling rendah sedangkan kontrol negatif memiliki rata-rata kadar TGF β paling tinggi.

Tabel 5.1 Rata-Rata Kadar TGF β

Kelompok Perlakuan	Rata-Rata Kadar TGF $\beta \pm$ SD (% sel)
Kontrol Negatif	$9,27 \pm 5,55^b$
Kontrol Positif	$1,89 \pm 1,92^a$
Perlakuan 1	$3,76 \pm 2,18^{ab}$
Perlakuan 2	$2,24 \pm 1,70^a$
Perlakuan 3	$2,19 \pm 1,48^a$

Keterangan : Perbedaan notasi menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan dengan nilai $p < 0,05$.

Kelompok kontrol negatif memiliki rata-rata kadar TGF β paling tinggi, hal ini karena kontrol negatif merupakan mencit yang dijahit dengan benang *silk* secara aseptis dan diberikan terapi antibiotik berupa *neomycin sulfat* dan *bacitracin*. [*neomycin*](#) adalah antibiotik golongan aminoglikosida yang digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan terutama oleh bakteri gram negatif. *neomycin* bekerja dengan cara mengikat secara reversibel terhadap sub unit 30s dari ribosom bakteri sehingga menghambat sintesa protein yang pada akhirnya menghambat pertumbuhan bakteri itu. *Bacitracin* adalah antibiotik yang dihasilkan dari organisme kelas *licheniformis bacillus subtilis var tracy*. Obat ini mempunyai spektrum luas, aktif terhadap bakteri gram negatif maupun positif. obat ini lebih banyak digunakan dalam sediaan topikal, karena mempunyai efek yang buruk terhadap ginjal bila digunakan secara oral atau parenteral. Dalam bentuk garamnya yaitu, Zn bacitracin, sering dikombinasikan dengan antibiotik lain seperti *neomycin* untuk mengobati berbagai infeksi kulit dan infeksi mata (Plumb, 2008).

Kontrol positif memiliki rata-rata kadar TGF β paling rendah (**Tabel 5.1**), hal ini dikarenakan kontrol positif merupakan kelompok mencit yang diberi perlakuan insisi dan dijahit dengan benang *silk* 4/0 dikontaminasi bakteri *S. aureus* tanpa pemberian terapi. Pengamatan makroskopis luka pada kontrol positif tampak masih berwarna kemerahan yang menandakan bahwa masih terjadinya proses inflamasi. Pada luka yang terinfeksi oleh bakteri *S. aureus* tubuh akan memberikan perlawanan berupa aktivasi respon imun. Respon imun yang terjadi akibat adanya invasi bakteri *S. aureus* yaitu bakteri sebagai antigen akan dikenali

dan dieliminasi oleh sistem imun bawaan sebagai pertahanan terdepan tubuh. Sistem imunitas bawaan yang berperan yaitu PMN dan makrofag demikian juga aktivasi komplemen memiliki peran yang penting. Bakteri gram positif mengandung peptidoglikan dalam dinding selnya yang mengaktifkan jalur alternatif komplemen dengan pembentukan *C3-convertase*. Salah satu hasil dari aktivasi komplemen adalah opsonisasi dan peningkatan fagositosis (Kresno, 2010).

Pada awal infeksi, sel-sel fagosit teraktivasi membunuh bakteri secara langsung dengan menelannya dan mensekresi berbagai substansi toksik seperti radikal bebas, namun substansi toksik ini juga dapat mengakibatkan rusaknya sel-sel yang sehat. Kemudian sel-sel yang rusak ini dapat menginduksi inflamasi lebih lanjut. Infiltrasi neutrofil dan makrofag pada fase inflamasi akan mengakibatkan produksi sitokin proinflamasi secara berlebihan. Neutrofil akan melepaskan enzim MMP (*Matrix Metalloproteinase*) yang mampu menghancurkan *growth factor* seperti TGF β . Sitokin yang berlebihan akan meningkatkan produksi MMP dan menghambat TIMP (*Tissue Inhibitor Matrix Metalloproteinase*). Produksi yang berlebihan akan mendegradasi ECM (*Ekstraselular Matrix*) dan *growth factor* sehingga menghambat proses penyembuhan luka dan terjadi inflamasi kronis (Cornelissen, 2004). Produksi MMP yang berlebihan menyebabkan produksi TGF β pada kontrol positif menjadi rendah. Gambaran makroskopis luka kelompok kontrol positif (**Gambar 5.2**) luka mencit masih menunjukkan adanya tanda inflamasi berupa rubor sedangkan pada gambaran mikroskopis kelompok kontrol positif masih terdapat banyak sel radang di area luka (**Gambar 5.8**).

Pada kelompok perlakuan rata-rata kadar TGF β mengalami peningkatan dibandingkan dengan rata-rata kelompok kontrol positif disebabkan karena adanya pengaruh dari terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) yang dapat meningkatkan kadar TGF β pada hewan model infeksi nosokomial. Hal ini dapat terjadi karena VCO memiliki efek sebagai antiinflamasi dan antibakteri sehingga dapat mempercepat proses inflamasi dengan menurunkan mediator inflamasi dan proses penyembuhan luka dapat segera memasuki fase proliferasi. Pada luka insisi, asam laurat, flavonoid, dan *tocopherol* VCO berperan dalam pencegahan infeksi dan kerusakan sel yang berlebihan. Mekanisme antimikroba VCO terhadap bakteri dipengaruhi oleh pH yang merupakan faktor penentu bakteri dapat mati atau hanya terinaktivasi, pH asam lemak rantai sedang (laurat) pH minimum 6,5 telah mampu membunuh bakteri. Penelitian lain menunjukkan bahwa salah satu efek antimikroba karena monolaurin membentuk signal transduksi atau toksin. Monolaurin diduga mengakibatkan kerusakan membran, menyebabkan kebocoran protein intraseluler dan asam nukleat, sehingga menurunkan aktivitas enzim yang berfungsi dalam metabolisme bakteri (Asriani, 2006).

Menurut Tamara, dkk (2014) asam laurat menstimulasi sel fibroblast oleh fibronectin. Asam laurat berkaitan dengan aktivasi TGF β . TGF β merupakan *growth factor* yang berproliferasi, kemudian menstimulasi fibronectin dalam pembentukan gumpalan benang fibrin. Gumpalan benang fibrin yang terbentuk akan membentuk kerangka re-epitelisasi dan proliferasi fibroblast. Sedangkan menurut Yang *et al* (dikutip dalam Jayadi, 2015) peranan TGF β selama proses proliferasi adalah menstimulasi angiogenesis, deposit kolagen, mendorong migrasi keratinosit dan reepitelisasi. Tahap lanjut proses penyembuhan, TGF β

menginhibisi proliferasi berbagai sel dan tetap mengontrol komponen-komponen matriks ekstraseluler, bukan saja untuk mendorong produksinya tetapi juga untuk mengontrol substansi-substansi yang merusak matriks ekstraseluler. Peningkatan ekspresi TGF β juga berperan untuk merangsang pertumbuhan dan proliferasi dari sel luka seperti keratinosit dan fibroblas untuk bermigrasi ke dalam ruang luka dan menginduksi terjadinya re-epitelisasi (Werner and Grose, 2003). Pada kelompok perlakuan 1, 2 dan 3 menunjukkan bahwa luka telah memasuki fase proliferasi yang ditandai dengan adanya peningkatan kadar TGF β dan secara makroskopis telah terjadi penutupan luka serta adanya pertumbuhan rambut, sedangkan pada gambaran mikroskopis perlakuan 1, 2 dan 3 penutupan luka sudah sempurna yang ditandai dengan penebalan epidermis di area luka. TGF β sangat penting dalam mengatur perbaikan jaringan setelah reaksi imulogis inflamasi lokal mereda (Abas dan Lichman, 2007).

Berdasarkan uji *Tukey* (**Tabel 5.1**) pada kelompok perlakuan 1 memiliki notasi yang berbeda dengan notasi kadar TGF β pada kontrol positif dan perlakuan 2 dan 3. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan 1 yang diberikan selama 7 hari berturut-turut pada hewan model luka insisi nosokomial pasca operasi merupakan pemberian terbaik pada penelitian ini dan dapat berpengaruh meningkatkan rata-rata kadar TGF β . Hal ini berkaitan dengan kadar air yang terkandung dalam VCO. Kadar air dalam penelitian ini sebanyak 0,68% (**Lampiran 2**) sedangkan menurut SNI kadar air maksimal dalam VCO adalah 0,2%, (Male, 2014). Sehingga tingginya kadar air tersebut memberikan hasil yang paling optimal pada perlakuan 1 dibanding perlakuan lain.

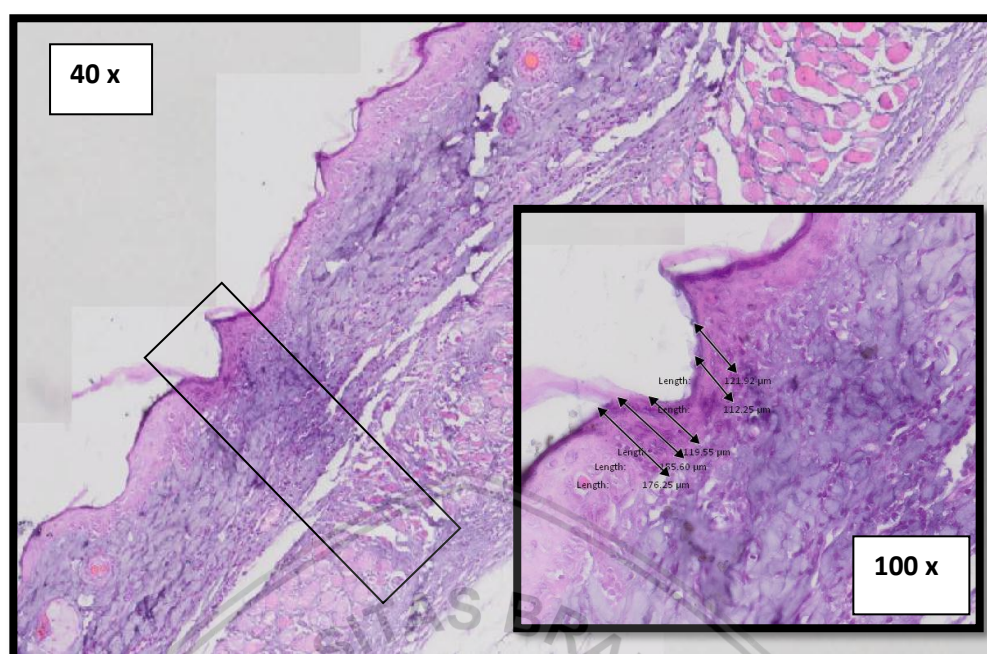
1.3 Efek Terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) Pada Luka Insisi Hewan Model

Infeksi Nosokomial Pasca Operasi Terhadap Ketebalan Epidermis

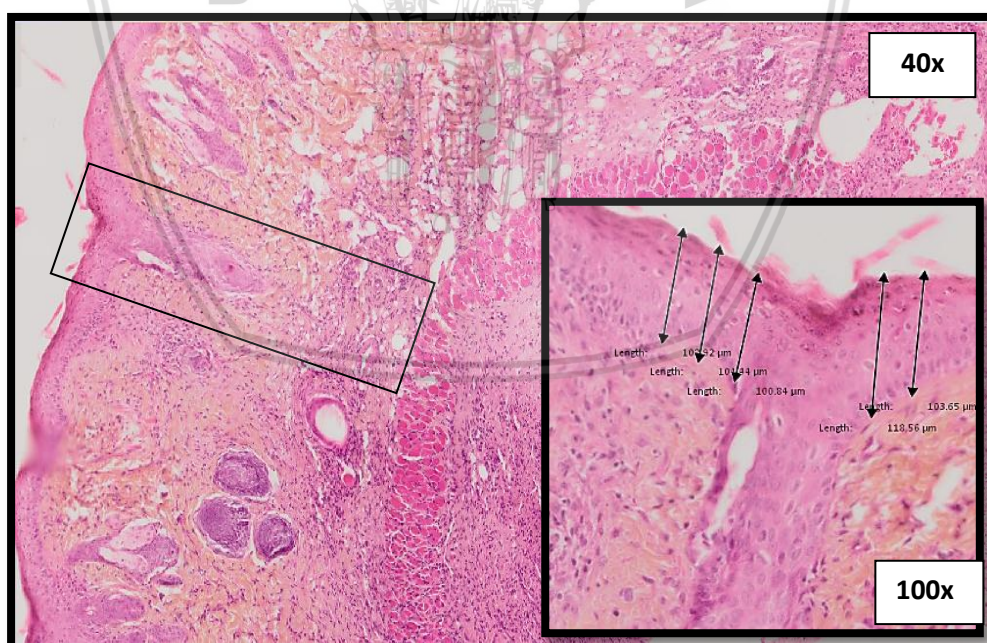
Pengamatan gambaran histopatologi ketebalan epidermis kulit dilakukan dengan pewarnaan HE (*Hematoxylen-Eosin*). Pengamatan dilakukan dengan membandingkan antar kelompok perlakuan dan dianalisa secara kuantitatif. Pengamatan parameter ketebalan epidermis dilakukan untuk mengetahui proses reepitelisasi. Proses reepitelisasi akan menghasilkan kembali lapisan epidermis yang utuh untuk menutup luka sehingga kulit dapat terlindungi dari lingkungan luar. Epidermis merupakan epitel permukaan daerah kulit yang terdiri dari lima lapisan yaitu stratum basal, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lusidum, dan stratum korneum (Janqueira, 2007). Gambaran histopatologi luka diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran total 40x dan 100x dilihat pada **Gambar 5.7** sampai **Gambar 5.11**. Gambar tersebut diolah dengan piranti lunak *image raster*, yaitu dengan mengukur tebal epidermis dalam satuan μm . Tebal epidermis adalah ukuran ketebalan lapisan-lapisan epidermis yang terbentuk pada daerah luka (Palumpun, 2017).

Pengamatan area luka insisi pada preparat histopatologi kulit akan terlihat seperti garis yang banyak terdapat sel radang disekitar area insisi. Pada bagian dermis tampak jaringan ikat yang padat tak teratur dengan serat kolagen yang terorientasi acak sedangkan lapisan epidermis pada area insisi lebih tebal jika dibandingkan kulit normal (Vidinsky, 2006). Area insisi juga ditandai dengan area kosong yang tidak ditumbuhi folikel rambut (Lemo, *et al.*, 2010).

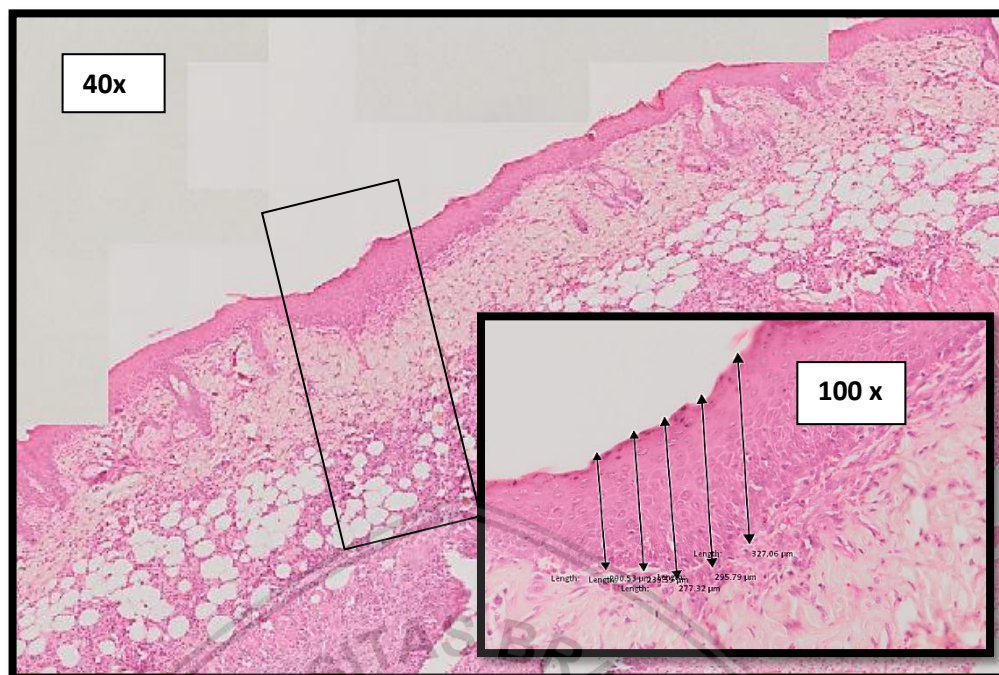
Hasil dari pengamatan preparat histopatologi dengan perbesaran total 100x nampak pada kelompok kontrol negatif (**Gambar 5.7**) pembentukan stratum pada epidermis sudah sempurna, yaitu sudah terbentuk *stratum basale*, *stratum spinosum*, *stratum granulosum*, *stratum lusidum*, dan *stratum korneum* akan tetapi masih terlihat sel radang disekitar luka. Pada kelompok kontrol positif (**Gambar 5.8**) pembentukan stratum pada epidermis belum sempurna hanya tampak *stratum basale*, *stratum spinosum*, *stratum granulosum*, *stratum lusidum*, dan *stratum korneum* akan tetapi pada *stratum basale* pembentukannya belum terlihat kompak, dan masih terdapat banyak sel radang di sekitar luka. Pada kelompok perlakuan 1 yaitu pemberian VCO satu kali sehari (**Gambar 5.9**) stratum pada epidermis sudah terbentuk sempurna yaitu *stratum basale*, *stratum spinosum*, *stratum granulosum*, *stratum lusidum*, dan *stratum korneum*, pada *stratum basale* pembentukannya terlihat kompak, dan masih terdapat sel radang disekitar luka. Pada kelompok perlakuan 2 yaitu pemberian VCO dua kali sehari (**Gambar 5.10**) stratum pada epidermis sudah terbentuk sempurna yaitu *stratum basale*, *stratum spinosum*, *stratum granulosum*, *stratum lusidum*, dan *stratum korneum*, pada *stratum basale* pembentukannya sudah terlihat kompak dan beraturan, dan juga masih terdapat sel radang di sekitar luka. Pada kelompok perlakuan 3 yaitu pemberian VCO tiga kali sehari (**Gambar 5.11**) stratum pada epidermis sudah terbentuk sempurna yaitu *stratum basale*, *stratum spinosum*, *stratum granulosum*, *stratum lusidum*, dan *stratum korneum*, pada *stratum basale* pembentukannya sudah terlihat kompak dan beraturan, namun masih terdapat sedikit sel radang di sekitar luka.



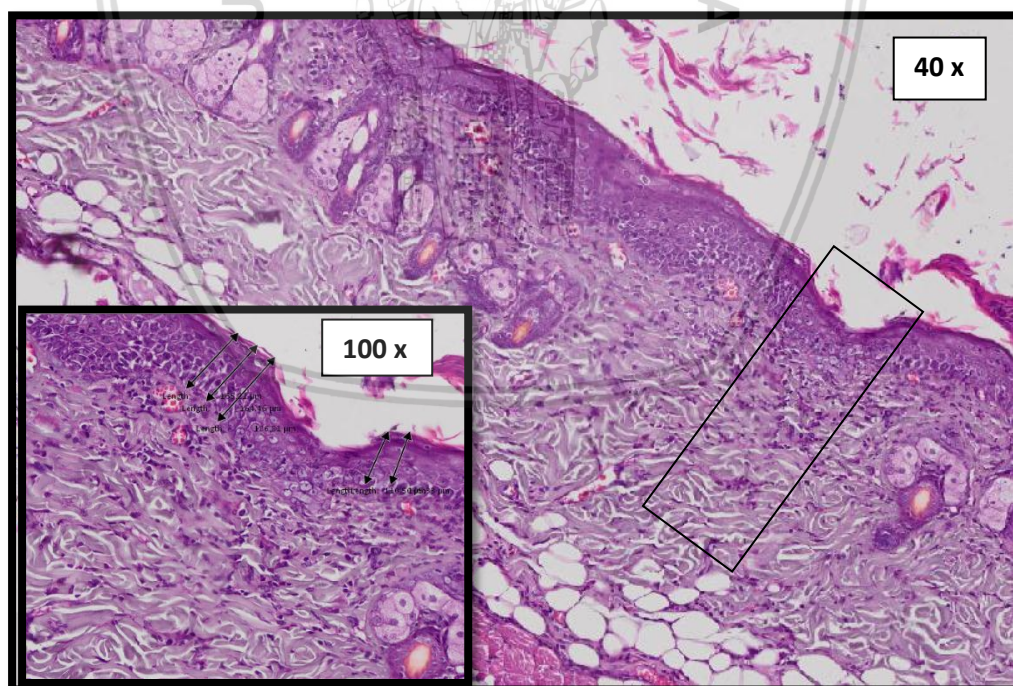
Gambar 5.7 Gambaran histopatologi luka kelompok kontrol negatif pewarnaan HE perbesaran 40x tampak daerah insisi (□). Insert : rata-rata ketebalan epidermis 8,43 μm (100x)



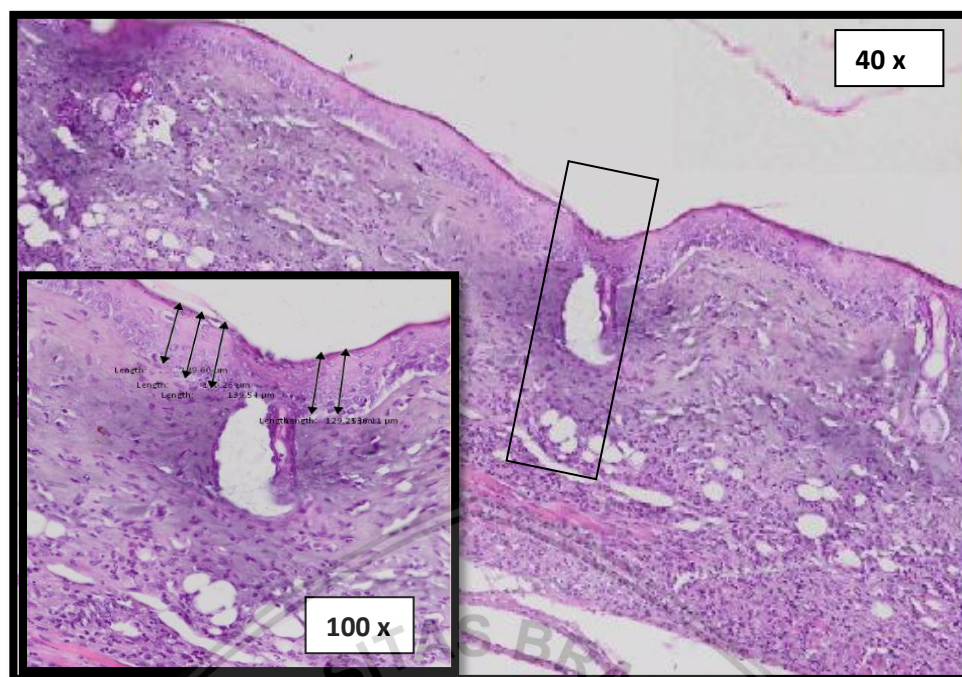
Gambar 5.8 Gambaran histopatologi luka kelompok kontrol positif pewarnaan HE perbesaran 40x tampak daerah insisi (□). Insert : rata-rata ketebalan epidermis 3,93 μm (100x)



Gambar 5.9 Gambaran histopatologi luka kelompok perlakuan 1 pewarnaan HE perbesaran 40x tampak daerah insisi (□). Insert : rata-rata ketebalan epidermis 7,20 µm (100x)

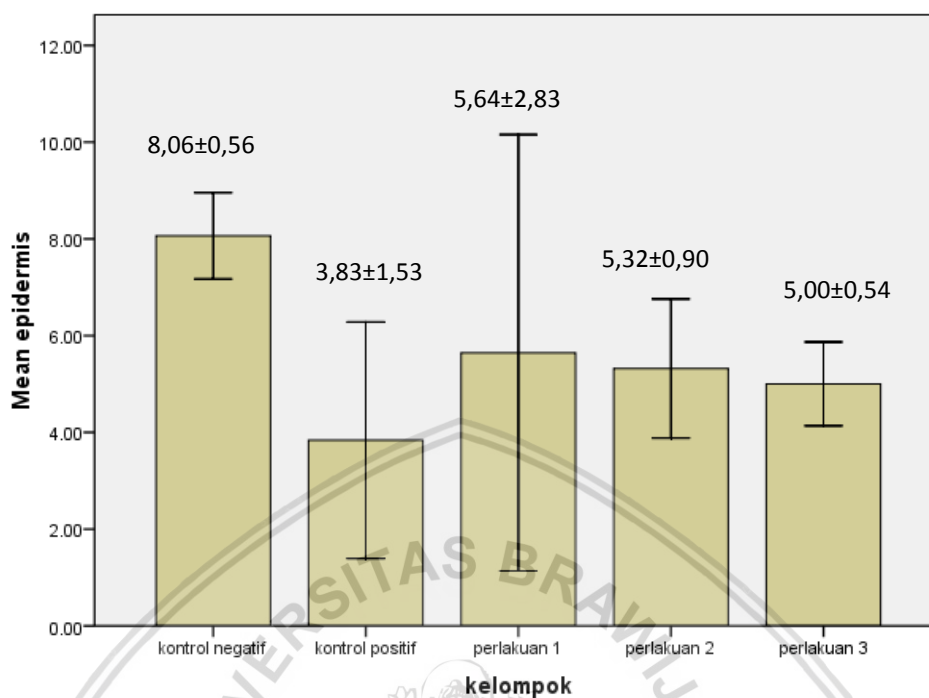


Gambar 5.10 Gambaran histopatologi luka kelompok perlakuan 2 pewarnaan HE pada perbesaran 40x tampak daerah insisi (□). Insert : rata-rata ketebalan epidermis 5,50 µm (100x)



Gambar 5.11 Gambaran histopatologi luka kelompok perlakuan 3 pewarnaan HE perbesaran 40x tampak daerah insisi (□) . Insert : rata-rata ketebalan epidermis 4,98 μm (100x)

Data rata-rata ketebalan epidermis yang diperoleh kemudian dianalisa secara statistika sehingga diperoleh hasil rata-rata ketebalan epidermis tertinggi terdapat pada kontrol negatif, terendah terdapat pada kontrol positif, dan adanya peningkatan pada setiap kelompok terapi jika dibandingkan dengan kontrol positif dengan standar deviasi pada masing-masing kelompok pada rentang 0,56-2,83. Standar deviasi menunjukkan sebaran data dalam sampel. Histogram hasil rata-rata ketebalan epidermis ditunjukkan oleh **Gambar 5.8** berikut ini.



Gambar 5.12 Diagram rata-rata kadar ketebalan epidermis pemeriksaan histopatologi dengan perbesaran 100x

Data ketebalan epidermis kemudian dilakukan uji normalitas didapatkan nilai *p value* sebesar $0,739 > 0,05$ yang berarti bahwa data terdistribusi normal (**Lampiran 8**) dan uji homogenitas didapatkan nilai *p value* sebesar $0,051 > 0,05$ menunjukkan bahwa data homogen (**Lampiran 8**). Selanjutnya dilakukan uji *one way ANOVA* diperoleh nilai *p value* sebesar $0,020 < 0,05$ yang berarti bahwa data menunjukkan adanya pengaruh terapi yang diberikan (**Lampiran 8**). Kemudian dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) atau *Tukey*.

Hasil uji *Tukey* terlihat perbedaan notasi yang ditunjukkan pada **Tabel 5.2** didapatkan hasil bahwa ketebalan epidermis pada kelompok kontrol positif berbeda nyata ($p < 0,05$) dibandingkan kelompok kontrol negatif. Ketebalan epidermis kelompok perlakuan 1 tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan

lainnya. Kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan, yang berarti bahwa pemberian VCO dengan frekuensi satu kali, dua kali dan tiga kali sehari memiliki potensi yang sama dengan pemberian antibiotik untuk terapi luka insisi terhadap peningkatan ketebalan epidermis. Hasil dari uji *Tukey* (**Lampiran 13**) dapat dilihat dalam **tabel 5.2**.

Tabel 5.2 Rata-Rata Ketebalan Epidermis

Kelompok Perlakuan	Rata-Rata Tebal Epidermis \pm SD (μm)
Kontrol Negatif	$8,06 \pm 0,56^b$
Kontrol Positif	$3,83 \pm 1,53^a$
Perlakuan 1	$5,64 \pm 2,83^{ab}$
Perlakuan 2	$5,32 \pm 0,90^{ab}$
Perlakuan 3	$5,00 \pm 0,54^{ab}$
Keterangan : Perbedaan notasi menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan $p < 0,05$.	

Kelompok kontrol positif memiliki perbedaan rata-rata paling rendah dibandingkan kelompok perlakuan lain yaitu sebesar 3,83. Pada gambaran makroskopis (**Gambar 5.2**) terlihat bahwa luka masih menunjukkan gejala inflamasi ditandai dengan adanya rubor, sedangkan dari gambaran mikroskopis juga tampak adanya sel radang di area luka. Kontrol negatif memiliki rata-rata lebih tinggi dari kelompok kontrol positif hal ini karena pada kelompok kontrol negatif proses re-epitelisasi terjadi lebih cepat, dimana proses re-epitelisasi dimulai pada fase proliferasi dalam penyembuhan luka. Pada fase proliferasi

mulai terjadi proses re-epitelisasi dimana sel-sel epitel mulai bermigrasi dan berproliferasi ke jaringan luka. Lapisan hemidesmosom antara epidermis dengan membran dasar menipis dan memungkinkan sel epitel yang telah aktif untuk bermigrasi ke jaringan luka dengan mengeluarkan sitokin seperti TGF β yang dapat meningkatkan sintesis kolagen. Proses re-epitelisasi akan menghasilkan kembali lapisan epidermis yang utuh untuk menutup luka sehingga dapat terlindungi dari lingkungan (Handayani, 2006). Dari gambaran makroskopis luka kelompok kontrol negatif menunjukkan luka sudah menutup dan pertumbuhan rambut banyak diarea luka dilihat dari gambaran makroskopis (**Gambar 5.1**). Kontrol negatif merupakan mencit yang diberikan terapi antibiotik topikal berupa *neomycin sulfat* dan *bacitracin* sehingga proses penyembuhan luka terjadi lebih cepat.

Neomycin adalah antibiotik golongan aminoglikosida yang digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan terutama oleh bakteri gram negatif. *neomycin* bekerja dengan cara mengikat secara reversibel terhadap sub unit 30s dari ribosom bakteri sehingga menghambat sintesa protein yang pada akhirnya menghambat pertumbuhan bakteri. *Bacitracin* adalah antibiotik yang dihasilkan dari organisme kelas *licheniformis bacillus subtilis var tracy*. Obat ini mempunyai spektrum luas, aktif terhadap bakteri gram negatif maupun positif. obat ini lebih banyak digunakan dalam sediaan topikal, karena mempunyai efek yang buruk terhadap ginjal bila digunakan secara oral atau parenteral (Plumb, 2008).

Pemberian terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) dapat mempercepat proses re-epitelisasi yang berpengaruh terhadap ketebalan epidermis, hal ini dibuktikan dengan adanya perbedaan notasi antara kelompok perlakuan 1, 2 dan 3

dibandingkan dengan kontrol positif. Hasil uji BNJ terlihat perbedaan notasi yang ditunjukkan pada **Tabel 5.2** dan diperoleh hasil bahwa ketebalan epidermis pada kelompok kontrol positif berbeda nyata ($p < 0,05$) dibanding kelompok kontrol negatif. Ketebalan epidermis kelompok perlakuan 1 tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan 2 dan 3 terlihat dari gambaran makroskopis pada perlakuan 1, 2 dan 3 semua sudah menunjukkan penutupan luka dan pertumbuhan rambut serta gejala inflamasi sudah berkurang. Jika ditinjau dari hasil rata-rata ketebalan epidermis pada kelompok perlakuan 1 mampu memberikan efek peningkatan rata-rata ketebalan epidermis terbaik jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan 2 dan 3. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui terapi VCO memberikan efek terapi berupa peningkatan ketebalan epidermis pada kelompok mencit model luka insisi nosokomial dengan cara mempercepat proses re-epitelisasi. Hal ini sesuai dengan teori menurut Tamara, dkk (2014) yaitu asam laurat menstimulasi sel fibroblast oleh fibronectin. Asam laurat berkaitan dengan aktivasi TGF β . TGF β merupakan *growth factor* yang berproliferasi, kemudian menstimulasi fibronectin dalam pembentukan gumpalan benang fibrin. Gumpalan benang fibrin yang terbentuk akan membentuk kerangka re-epitelisasi dan proliferasi fibroblas. Kandungan Asam laurat dalam VCO juga berfungsi sebagai anti-inflamasi pada penyembuhan luka, sehingga fase inflamasi dapat dilalui lebih cepat. Pendeknya fase inflamasi akan semakin cepat menuju fase proliferasi.

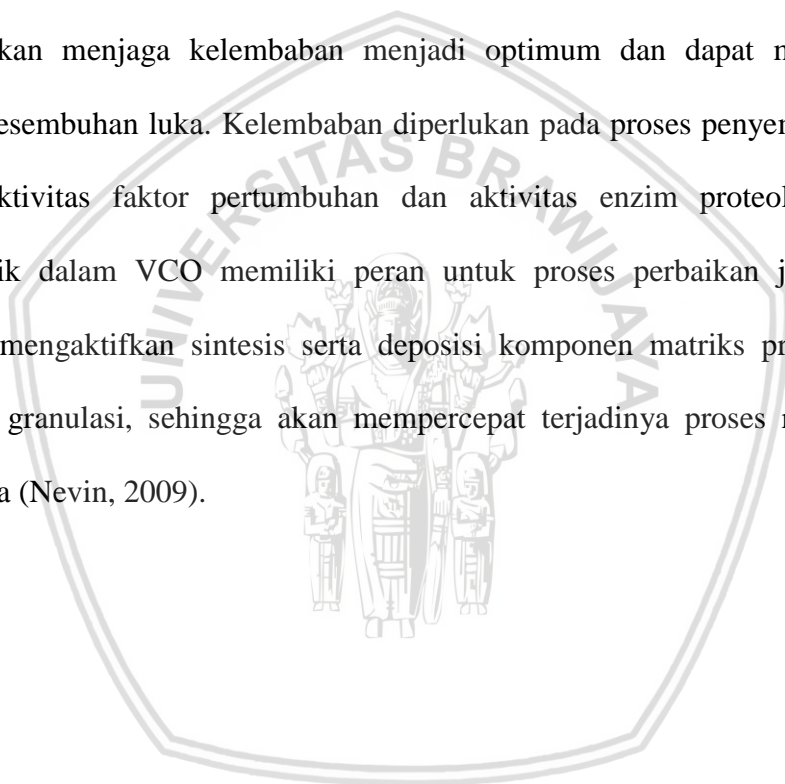
Proses re-epitelisasi dimulai pada fase proliferasi. Pada fase proliferasi, sel yang dominan pada lokasi luka adalah fibroblas. Respon yang dilakukan oleh fibroblas terhadap proses fibroplasia adalah proliferasi dan migrasi jaringan matriks, serta kontraksi luka. Fibroblas juga memproduksi substansi yang

berperan dalam rekontruksi jaringan antara lain kolagen, elastin, asam hialuronik, fibronectin, proteoglikan, dan KGF. *Keratinocyte Growth Factor* (KGF) merupakan substansi penting dalam mempercepat proses re-epitelisasi dan penutupan luka (Ojeh *et al*, 2015). *Keratinocyte Growth Factor* (KGF) dan *Epidermal Growth Factor* (EGF) merangsang epitel tepi luka yang terdiri dari sel basal terlepas dari dasarnya dan berpindah mengisi permukaan luka, kemudian diisi sel baru yang terbentuk mitosis. Proses ini berhenti setelah epitel saling menyentuh dan menutup permukaan luka (Hatz, 2004). Fungsi TGF β berpengaruh secara positif terhadap fibroblast, yaitu sebagai kemotaksis. Sifat dari kemotaksis antara lain, menstimulasi proses proliferasi, memproduksi ECM pada proses proliferasi serta maturasi untuk membentuk kolagen dan fibronectin, dan fase *remodeling* TGF β menghambat substansi-substansi yang merusak matriks ekstraseluler. TGF β merupakan *chemoattractant* bagi neutrofil dan fibroblast yang pada gilirannya mengontrol angiogenesis. Tahap lanjut proses penyembuhan, TGF β menghambat proliferasi berbagai sel dan tetap mengontrol komponen-komponen matriks ekstraseluler. Peningkatan ekspresi TGF β pada tahap lanjut menginduksi fibroblast mengekspresikan integrin yang memfasilitasi komponen migrasi keratinosit yang mempercepat reepitelisasi (Jayadi, 2015).

Berdasarkan uji *Tukey* yang dilakukan terhadap ketebalan epidermis terlihat tidak adanya perbedaan notasi antara kelompok perlakuan 1, 2 dan perlakuan 3 yang ditunjukkan pada **Tabel 5.2** namun jika dilihat dari rata-rata ketebalan epidermis, perlakuan 1 memiliki rata-rata paling tinggi dibanding perlakuan lain. Hal ini menunjukkan bahwa VCO yang diberikan satu kali sehari selama 7 hari berturut-turut pada hewan model luka insisi nosokomial merupakan

pemberian terbaik pada penelitian ini dengan meningkatkan kadar TGF β dan meningkatkan ketebalan epidermis.

Pemberian terapi VCO satu kali sehari merupakan pemberian yang paling efektif karena adanya pengaruh kelembaban dalam VCO. VCO yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kadar air sebesar 0,68% sedangkan menurut SNI kadar air maksimal sebesar 0,2% (Male, 2014). Kandungan air yang terlalu tinggi merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroba. Pemberian satu kali sehari akan menjaga kelembaban menjadi optimum dan dapat mempercepat proses kesembuhan luka. Kelembaban diperlukan pada proses penyembuhan luka untuk aktivitas faktor pertumbuhan dan aktivitas enzim proteolitik. Enzim proteolitik dalam VCO memiliki peran untuk proses perbaikan jaringan dan mampu mengaktifkan sintesis serta deposisi komponen matriks protein dalam jaringan granulasi, sehingga akan mempercepat terjadinya proses re-epitelisasi pada luka (Nevin, 2009).



BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah disampaikan dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Pemberian terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) satu kali sehari mampu meningkatkan kadar TGF β di jaringan kulit mencit (*Mus musculus*) model nosokomial.
2. Pemberian VCO (*Virgin Coconut Oil*) satu kali sehari, dua kali sehari, dan tiga kali sehari mampu meningkatkan ketebalan epidermis di jaringan kulit mencit (*Mus musculus*) model nosokomial.

6.2 Saran

Perlu dilakukan studi lanjutan mengenai cara pembuatan VCO untuk mendapatkan tingkat kelembaban yang optimal untuk penyembuhan luka insisi infeksi nosokomial.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A. K., Lichman, A. H., and Pillai, S. 2007. Cellular and Molecular Immunology 6thed. WB Saunder., Philadelphia. 267-301.
- Afifurrahman, S. K., Husni, dan Syahril, A. 2014. Pola Kepekaan Bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap Antibiotik Vancomycin di RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang. Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya. MKS, Th. 46, No. 4.
- Akbar, B. 2010. Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas. Jakarta : Adabia Press. Halaman 10-12
- Alamsyah, A. N. 2005. *Virgin Coconut Oil* Minyak Penakluk Aneka Penyakit. Penerbit Agro Media Pustaka. Jakarta.
- Arsa, M. A., Bawa, P., E. Sahara, I. A. R., dan A. Asih. 2004. Pembuatan Minyak Kelapa dengan Metode Fermentasi. Udayana Mengabdi. 3 (1) : 21-26.
- Asriani. 2006. Kajian Efek Sinergi Antimikroba Metabolit Bakteri Asam Laktat dan Monoasilgliserol minyak Kelapa Terhadap Bakteri Patogen [Thesis]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Atik, N., J. Iwan. 2009. Perbedaan Efek Pemberian Topikal Gel Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) dengan Solusio Povidon Iodine Terhadap Penyembuhan Luka Sayat pada Kulit Mencit (*Mus musculus*). Fakultas Kedokteran. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Balqis, U., dan Rasmaidar, M. 2014. Gambaran Histopatologis Penyembuhan Luka Bakar Menggunakan Daun Kedondong (*Spondias dulcis F.*) Dan Minyak Kelapa pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). Jurnal Medika Veterinarian 8 (1): 31-34.
- Begum, D., and Nath S.C. 2000. Ethnobotanical Review of Medicinal Plants Used For Skin Diseases and Related Problems in Northeastern India. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants* vol. 7, p: 55-93
- Cahyati, D., Indriansari, A., dan Kusumaningrum, A. 2015. Pengaruh *Virgin Coconut Oil* Terhadap Ruam Popok Pada Bayi. Jurnal Keperawatan Sriwijaya. 1 (2): 2355-5459.
- Clouthier, S., and T. Luther. 2015. *SOP-BCR-6.3 Ketamine/ Xylazine Containing Anesthesia for Mouse Surgery Preparation*. <http://www.med.umich.edu/wichalab/SOP/SOP%206%203%20Ketamine%20Xylazine%20Anesthesia%204-2-2015.pdf> [Diakses 3 Januari 2018].
- Cornelissen, L. H. 2004. Which Molecules of the Initial Phase of Wound Healing May be Used as Markers for Early Detection of Skin Damage. BMTE.



- Cytopathol, D. 2009. Evaluation of Flowcytometric Immunophenotyping and DNA Analysis for Detection of Malignant Cells in Serosal Cavity Fluids. 37 (7): 498-504.
- Dai, T., G. B. Kharkwal, M. Tanaka, Y. Huang, V. C. B. de Arce, and M. Hamblin. 2011. Animal Models of External Traumatic Wound Infections. *Virulence* 2(4): 296-315
- Dao, H, Jr., and Kazin, R.A. 2010. Gender Differences in Skin: A Review of the Literature. *Gend Med.* 2007; 4:308-328.
- David, P. S. 1989. Prinsip-Prinsip Biokimia, edisi ke-2. Airlangga. Surabaya.
- Dewi, A. K. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sains Veteriner* 31(2): 138-150
- Djamaludin, A. M. 2009. Pemanfaatan Kitosan dari Limbah Krustasea untuk Penyembuhan Luka pada Mencit (*Mus musculus albinus*) [skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Djuanda, A. 2003. Ilmu Penyakit Kulit Dan Kelamin. 5th Edition. Jakarta : Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia; p. 7-8.
- Eslami, A., C. L. Gallant-Behm., D. A. Hart., C. Wiebe., D. Honardoust., H. Gardner. 2009. Expression of Integrin $\alpha\beta$ and TGF β in Scarless vs Scar-forming Wound Healing. *J Histochem*; 57; 543-57.
- Ester, A. N. I. S., dan Troef, S. 2012. Pengaruh Pemberian Low-Level Laser Therapy Pada Proses Penyembuhan Luka Bakar Derajat II. Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya.
- Fajrin, E. 2012. Penggunaan Enzim Bromelin pada Pembuatan Minyak Kelapa (*Cocos nucifera*) secara Enzimatis [Skripsi]. Makassar: Universitas Hasanudin.
- Febram, B., I. Wientarsih dan B. Pontjo. 2010. Activity Of Ambon Banana (*Musa Paradisiaca* Var. *Sapientum*) Stem Extract In Ointment Formulation On The Wound Healing Process Of Mice Skin (*Mus Musculus Albinus*). *Majalah Obat Tradisional* 15(3): 121-137
- Fischetti, A., Novick, R.P., Ferreti, J.J., Portnoy, D. A., and Rood, J. I. 2000. Gram Positif. Washington DC: ASM Press
- Fife, B. 2004. The Coconut Oil Miracle. Colorado Springs: Picadilly Books Ltd.
- Gurtner, G. C. 2007. Wound Healing, Normal and Abnormal. Grab and Smith's Plastic Surgery 6th edition, p: 15-22.

- Handayani, R. S. 2010. Efektifitas Penggunaan *Virgin Coconut Oil* (VCO) dengan *Massage* untuk Pencegahan Luka Tekan *Grade I* pada Pasien yang Berisiko Mengalami Luka Tekan di RSUD dr. hi. Abdoel Moeloek Provinsi Lampung. [Thesis]. Universitas Indonesia.
- Harper, D., A. Young, and C. E. McNaught. 2014. The Physiology of Wound Healing. *Elsevier Surgery* 32: 9.
- Hatz, R.A., Niedner, R., and Vanscheidt, W. 2004. Physiology of Wound Healing. Berlin: *Springer-Verlag* p: 1-16.
- Hefni, M., M. Rifa'i, dan Widodo. 2013. Aktivitas Ekstrak Daun Kelor Terhadap Respons imun humoral pada mencit yang diinfeksi *Salmonella typhi*. *Jurnal Veteriner* 14(4): 519-526
- Horran, T. C., M. Andrus, M. A. Dudeck. 2008. CDC/ NHSN Surveillance Definition of Health Care-Associated Infection and Criteria for Specific Types of Infections in the Acute Care Setting. *Am. J. Infect. Control.* 36(5): 309–332
- Janqueira, L.C and Carneiro, J. 2007. Persiapan Jaringan Untuk pemeriksaan Mikroskopis. *Histology Dasar*. Edisi 10. Jakarta: EGC. 3-5.
- Jayadi, T., A. Krismi. 2015. Perbedaan Indikator-Indikator Penyembuhan Luka Tikus Wistar Non Diabetik Dan Diabetik Pada Pemberian *Curcumin* Topikal. 1 (1): 2460-9684.
- Kalangi., dan Sonny J. R. 2013. *Histofologi Kulit*. *Jurnal Biomedik (JBM)* 5 (3): S12-20.
- Kane, D. P. dan D. Krasner. 1997. *Chronic Wound Care*, 2nd ed. Health Management Publications Inc.
- Khishna, A., D. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*: 0126 – 0421
- Kresno, S. B. 2010. *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Edisi kelima. Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Kristianto, H. 2010. Perbandingan Perawatan Luka Teknik Modern dan Konvensional Terhadap *Transforming Growth Factor β I* (TGF β I) dan Respon Nyeri Pada Luka *Diabetes Melitus*. [Tesis]. Universitas Indonesia.
- Kumar. V., R. Cotran, and S. L. Robbins. 2007. *Buku Ajar Patologi*, Edisi Ketujuh. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Kurniawati, A. F. S., Prijono, Satyabakti., dan N. Arbianti. 2015. Perbedaan Risiko *Multidrug Resistance Organisms* (MDROS) Menurut Faktor Risiko

dan Kepatuhan Hand Hygiene. *Jurnal Berkala Epidemiologi*. 3 (3): 277–289.

Lemo, N., Marugnac, G., Reyes, Edouard, G., Lilin, Thomas., and Crosaz, O. 2010. Cutaneous Reepithelization and Wound Contraction After Skin Biopsies in Rabbits: A Mathematical Model for Healing and Remodelling Index. *Veterinars Klarhiv* 80 (5). 637-652.

Listyanti, A. R. 2006. Pengaruh Pemberian Getah Batang Pohon Pisang Ambon (*Musa parasidiaca* var. *Sapientum*) dalam Proses Penyembuhan Luka pada Mencit (*Mus musculus albinus*) [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Lorentz, H. P., and Longaker, M. T. 2006. Wound Healing: Repair Biology and Wound and Scar Treatment in Mathes, S. J. and Hentz, V. R., Plastic surgery. Philadelphia: *Saunders Elsevier*, p: 209-34.

Male, K., Nuryanti, S., dan Rahmawati, S. 2014. Ekstrak Enzim Protease Dari Daun Palado (*Aqave angustifolia*) dan Pemanfaatannya dalam Proses Pembuatan Virgin Coconut Oil. *J. Akad. Kim.* 3 (3): 111-120.

McRipley, R. J., R. R. Whitney. 1976. Characterization and Quantitation of Experimental Surgical-Wound Infections Used to Evaluate Topical Antibacterial Agents. *Antimicrob Agents Chemother* 10:38-44

Mescher AL. 2010. Junqueira's Basic Histology Text & Atlas. New York: McGraw Hill Medical.

Milton, A. A.P., G. B. Priya, M. Aravind, S. Parthasarathy., M. Saminathan., K. Jeeva, and R. K. Agarwal. 2015. Nosocomial infections and their surveillance in veterinary hospitals. *Advances in Animal and Veterinary Sciences* 3 (2): 1-24

Morison, M. J. 2004. Manajemen Luka. Jakarta : EGC.

Montgomery, D., S. Kowalsky. 2011. Design and Analysis of Experiment. *John Willey an Sainc Inc.* 978-0-470.

Muliani, H. 2011. Pertumbuhan Mencit (*Mus musculus L*) Setelah Pemberian Biji Jaraj Pagar (*Jatropha curcas*) White Mouse (*Mus musculus L*). *Growth Exposed to Barbados Nut's Seed Bioma*. 73-79.

Nasution, L. H. 2012. Infeksi Nosokomial. *MDVI* 39(1): 36-41.

Nevin, K. G., dan T. Rajamohan. 2010. Effect of Topical Aplication of *Virgin Coconut Oil* on Skin Components and Antioxidant Status during Dermal Wound Healing in Young Rats. *Skin Pharmacology and Physiology*. 23: 290-97.

- Ojeh, N., Pastar, I., Canic, M.T., and Stojadinovic. 2015. Stem Cell in Skin Regeneration, Wound Healing, and Their Clinical Application. *Jurnal of Molecular Science* 16. Hal 25476-25501.
- Oscarina, S. 2015. Identifikasi *Staphylococcus aureus* yang Memproduksi Protein A Diisolasi dari Sapi Mastitis Subklinis [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Pavletic, M. M. 2010. Atlas of Small Animal Wound Management and Reconstructive Surgery. Iowa: W.B. Saunders Company.
- Palumpun, E. F., A. G. P. Wiraguna., and W. Pangkahila. 2017. Pemberian Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*) Secara Topikal Meningkatkan Ketebalan Epidermis, Jumlah Fibroblas, dan Jumlah Kolagen dalam Proses Penyembuhan Luka pada Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*). *Jurnal e-Biomedik (eBM)*, 5 (1).
- Plumb, D. C., 2008. Plumb's Veterinary Drug Handbook. 6th ed. Wisconsin: Pharma Vet Inc.
- Prabakti, Y. 2005. Perbedaan Jumlah Fibroblas di Sekitar Luka Insisi Pada Tikus yang diberi Infiltrasi Penghilang Nyeri *Levobupivakain* dan yang tidak Diberi *Levobupivakain* [Tesis]. Program Pascasarjana dan Program Pendidikan Dokter Spesialis Anestesiologi. Universitas Diponegoro Semarang.
- Qasimah, D. 2017. Proses Produksi *Virgin Coconut Oil* (VCO) Menggunakan Variasi Keasaman Jeruk. Seminar Temu Nasional Inovasi Pengelolaan, Pemanfaatan, dan Festival Sumber Genetik Lokal. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Jawa Timur.
- Salsabila, M. 2016. Pembuatan Minyak Kelapa dengan Pengasaman (Jeruk Nipis) dan Penetralan dengan NaCO_3 Beserta Uji Kualitasnya [Skripsi]. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Semarang
- Sari, M. 2015. Uji Bakteriologis dan Resistensi Antibiotik terhadap Bakteri *E. coli* dan *Shigella sp.* pada Makanan Gado-Gado di Kantin UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. Skripsi. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta
- Setiani, D. 2014. Efektifitas Massage Dengan *Virgin Coconut Oil* Terhadap Pencegahan Luka Tekan di *Intensive Care Unit*. 8 (3). 389-442.
- Suastuti, A. D. 2009. Kadar Air dan Bilangan Asam dari Minyak Kelapa yang Dibuat dengan Cara Tradisional dan Fermentasi. *Jurnal Kimia* 3 (2): 69-74.
- Suharto dan R. Utji. 1994. Mikrobiologi Kedokteran. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia.

- Sujono, E. 2010. Uji Antibakteri Senyawa N-Fenil-N'-(Klorobenzoil) Tiourea Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* [Skripsi]. Unika Widya Mandala, Surabaya.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi. 1989. Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Yogyakarta: Liberty.
- Tahari, N. A. 2013. Laporan Teknik Instrumentasi Laboratorium Biosistem (Hewan Coba). Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Tamara, A., H. J. Yayun., S. R. Mujayanto. 2014. Pengaruh Aplikasi *Virgin Coconut Oil* Terhadap Peningkatan Jumlah Fibroblas Pada Luka Pasca Pencabutan Gigi pada *Rattus Novergicus*. *Odonto Dental Journal*. Vol. 1.
- Tambayong, J. 2009. Mikrobiologi untuk Keperawatan. Widya Medika. Jakarta.
- Todar, K. 1998. Bacteriology 330 Lecture Topics: *Staphylococcus*. Kenneth Todar University of Wisconsin Department of Bacteriology, Wisconsin, USA.
- Tortora, G. J., dan Derrickson, B. 2009. Principles Of Anatomy and Physiology. USA: John Wiley & Sons.Inc.
- Umar, A., Krihariyani, D., dan Mutiarawati, D. T. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Binahong (*Adredercordifolia* (TEN) *steenesis*) Terhadap Kesembuhan Luka Infeksi *Staphylococcus aureus* pada Mencit. *Analisis Kesehatan Sains* 2 (1): 2302-3635.
- Vindinsky, B., Gal, P., Toporcer, T., Longauer, F., Lenhardt, L., Bobrov, N., and Sabo, J. 2006. Histological Study of the first Seven days of Skin Wound Healing in Rat. *Acta Veterinaria Brno*. 75: 197-202.
- Werner, S., and Grose, R. 2003. Regulation of Wound Healing by *Growth Factor* and *Cytokines*. *Physiol rev* 83. p: 193-200.
- Williams, J. W. dan A. Moores. 2009. BSAVA Manual of Canine and Feline Wound Management and Reconstruction. London: BSAVA
- World Health Organization. 2002. Prevention Of Hospital-Asquired Infection A Practical Guide 2nd Edition. World Health Organization
- Yang, L., Chan, T., Demare, J., Iwashina, T., Ghahary, A., Scott, P. G., and Tredget, E. E. 2001. Healing of Burn Wounds in Transgenic Mice Overexpressing *Transforming Growth Factor-β* in the Epidermal. *American Journal of Pathology*. 6 (159): 2147-57.